SYNTHESE UND STRUKTUR CHIRALER POLYSILOXANPHASEN ZUR GASCHROMATOGRAPHISCHEN TRENNUNG OPTISCH AKTIVER SCHWEFELVERBINDUNGEN

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften

der Fakultät für Chemie und Pharmazie
der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von

Ernst Küsters

aus Kempen

1983

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

SYNTHESE UND STRUKTUR CHIRALER POLYSILOXANPHASEN ZUR GASCHROMATOGRAPHISCHEN TRENNUNG OPTISCH AKTIVER SCHWEFELVERBINDUNGEN

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften

der Fakultät für Chemie und Pharmazie
der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von

Ernst Küsters

aus Kempen

1983

Tag der mündlichen Prüfung: 25. Oktober 1983

Dekan:	Prof. Dr. J. Strähle
1. Berichterstatter:	Prof. Dr. E. Bayer
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. G. Jung

Die vorliegende Arbeit wurde unter Leitung von Herrn Professor Dr.Ernst Bayer in der Zeit von Oktober 1981 bis August 1983 am Institut für Organische Chemie der Universität Tübingen durchgeführt.

Meinem verehrten Lehrer
Herrn Professor Dr. Ernst Bayer
danke ich für die Stellung des Themas und für seine jederzeit freundliche Unterstützung dieser Arbeit.

Für Marianne

A b s t r a c t

KÜSTERS, ERNST

SYNTHESE UND STRUKTUR CHIRALER POLYSILOXANPHASEN ZUR GASCHROMATOGRAPHISCHEN TRENNUNG OPTISCH AKTIVER SCHWEFELVERBINDUNGEN

Die einzelnen Schritte der Chirasil-Val-Synthese werden in Hinblick auf die Darstellung eines in der Polarität reproduzierbaren Silikons untersucht und optimiert. Man erhält eine stationäre Phase, bei der keine Proteinaminosäure-Enantiomere coeluieren. Dieser Aspekt ist wichtig, um die Methode des Enantiomer-Labellings zur routinemäßigen Aminosäureanalyse zu verwenden.
Anhand von Modellpolymeren und -phasen werden Problemstellen im Syntheseweg aufgezeigt und beseitigt. Die gaschromatographische und massenspektroskopische Analyse dieser Modellpolymere erlaubt die Bestimmung der bei der Äquilibrierung entstandenen Molmassenverteilungen sowie Aussagen über die Strukturen der resultierenden stationären Phasen. Die so gewonnenen Ergebnisse werden auf die Chirasil-Val-Synthese übertragen und führen zur Strukturbestimmung von Chirasil-Val. Die dargestellten Modellphasen können ebenfalls erfolgreich zur gaschromatographischen Enantiomerentrennung genutzt werden.
Fragestellungen der Gaschromatographie (Belegung und Desaktivierung von Kapillaren, Temperaturstabilität und Racemisierung der stationären Phase usw.) werden mit den synthetisierten stationären Phasen untersucht.

Mit der gaschromatographischen Enantiomerentrennung von Verbindungen mit asymmetrisch substituiertem Schwefelatom wird ein neues Anwendungsgebiet für Chirasil-Val-Kapillaren erschlossen. Es wird über die Trennung chiraler Sulfoxide, Sulfoximine, Sulfurane und Sulfite berichtet.
Die Enantiomere tetrafunktioneller schwefelhaltiger Aminosäuren wie Lanthionin, Cystathionin und Allocystathionin werden ebenfalls an Chirasil-Val getrennt.

UNIV. LÜBECK BIBL.

Inhaltsverzeichnis

A) ALLGEMEINER TEIL 1

1. Einleitung 1

2. Problemstellung 7

I. Synthese von Chirasil-Val 8

1.1. Hydrosilylierung von Dichlormethylsilan mit einem cyano- oder methylesterfunktionalisiertem Olefin 9

1.2. Verseifung der Nitril- bzw. Estergruppe 15

1.3. Darstellung der Copolymere 17

1.4. Einfluß des Kupplungsreagenzes 24

1.5. Veränderung der Polarität durch Zugabe eines polaren Modifikators 27

1.6. Darstellung einer Mischphase 29

1.7. Reinigung der stationären Phase 31

2. Das "Serin-Problem" 32

3. Erhöhung der thermischen Stabilität durch Quervernetzung von Chirasil-Val 35

4. Vorteil persilylierter Glaskapillaren 39

5. Derivatisierung der Aminosäuren 41

6. Analytik der Polysiloxane 43

7. Optimierter Syntheseweg für die Chirasil-Val-Darstellung 48

II. Darstellung von Modellpolymeren und -phasen zur Strukturaufklärung von Chirasil-Val 51

1. Einleitung und Problemstellung 51

2. Theorie von Jacobson und Stockmayer 53

3. Gaschromatographische Trennung homologer Siloxane 58

4. Durchführung der Synthesen 61

5. Strukturaufklärung von Chirasil-Val 86

6. Analytik der in II.4. und 5. dargestellten Siloxane 97

III. Gaschromatographische Enantiomerentrennung von Molekülen mit optisch aktivem Schwefelatom an Chirasil-Val

1. Räumliche Betrachtungen zur Chiralität schwefelhaltiger Moleküle 105

2. Überblick über bisherige Trennungen chiraler Schwefelverbindungen mit einem Asymmetriezentrum am Schwefel 106

3. Gaschromatographische Trennung des Methionin-S-oxid- bzw. 2-Methylmethionin-S-oxid-Diastereomerenpaares an einer Chirasil-Val-Säule 109

4. Gaschromatographische Trennung des Diastereomerenpaares von L-Methionin-(SR)-sulfoximin an Chirasil-Val 116

5. Gaschromatographische Enantiomerentrennung chiraler Sulfoxide mit Asymmetriezentrum am Schwefel 119

6. Versuch der gaschromatographischen Enantiomerentrennung von γ-Aminopropyl-methylsulfoxid 124

7. Versuch der gaschromatographischen Enantiomerentrennung von Allicin 128

8. Diastereomerentrennung chiraler Sulfite am Beispiel des 4-Phenyl-1,3,2-dioxathiolan-S-oxids 130

IV. Enantiomerentrennung und gaschromatographischer Nachweis schwefelhaltiger Aminosäuren

1. Gaschromatographische Enantiomerentrennung von Lanthionin, Cystathionin und Allocystathionin an Chirasil-Val 133

2. Gaschromatographischer Nachweis von S-(Alkylmercapto)cysteinen 136

B) EXPERIMENTELLER TEIL

1. Geräte und Instrumente 141

2. Chemikalien und Reagenzien 141

3. Synthesen zum Kapitel A.I. 143

4. Synthesen zum Kapitel A.II. 152

5. Synthesen zum Kapitel A.III. 159

6. Synthesen zum Kapitel A.IV. 163

7. Gaschromatographie 164

C) ZUSAMMENFASSUNG 166

Literaturverzeichnis 169

Abkürzungen

DOPA	- 3,4-Dihydroxyphenylalanin
DCC	- N,N'-Dicyclohexylcarbodiimid
CDI	- Carbonyldiimidazol
PFP	- Pentafluorpropionsäure
PFPA	- Pentafluorpropionsäureanhydrid
TFA	- Trifluoressigsäure
TFAA	- Trifluoressigsäureanhydrid
HFBA	- Heptafluorbuttersäureanhydrid
BOC	- t-Butyloxycarbonyl
DMF	- Dimethylformamid
IR	- Infrarot
NMR	- Kernmagnetische Resonanz
GC	- Gaschromatographie
GC/MS	- Gaschromatographie/Massenspektroskopie
MSTFA	- N-Methyltrimethylsilyltrifluoracetamid
MG	- Molekularmasse
unkorr. Ausb.	- unkorrigierte Ausbeute

Die Abkürzungen der Aminosäuren entsprechen den IUPAC-Regeln

Val	- Valin
	usw. (α-Ile steht für allo-Ile)
Chirasil-Val	- Copolymer aus Dimethylsiloxan und Carboxyalkylsiloxan, an das L-Val-t-butylamid als chirale Komponente gekuppelt worden ist

Die Abkürzungen aus der Silikonchemie

MM	- Hexamethyldisiloxan
MDM	- Oktamethyltrisiloxan
D_4	- Oktamethylcyclotetrasiloxan
	usw.

werden im Text ausführlicher erläutert

A) ALLGEMEINER TEIL

1. Einleitung

In pflanzlichen und tierischen Proteinen tritt von den beiden Aminosäureenantiomeren jeweils nur das eine auf, wobei diese natürlich vorkommenden Enantiomere in der räumlichen Anordnung der vier Gruppen am α-Kohlenstoffatom miteinander übereinstimmen (1). Diese Anordnung nennt man L-Konfiguration. Nach der üblichen Cahn-Prelog-Ingold Nomenklatur besitzen die natürlich vorkommenden Proteinaminosäuren die S-Konfiguration, mit Ausnahme von Cystein und Cystin (2,3). Wegen dieser Ausnahmen wird der älteren D,L-Schreibweise sehr oft der Vorzug gegeben.

Bis heute gibt es keine eindeutige Erklärung für diese Stereospezifität in der Natur. Als Folge aber beobachtet man eine hohe stereoselektive Erkennung und Reaktion von biologischen Systemen, sowohl mit natürlichen Substraten als auch mit synthetischen Arzneimitteln (4,5). Verantwortlich hierfür ist die Differenz in der freien Enthalpie, die sich durch Wechselwirkung z.B. eines Enzyms mit einem Enantiomerenpaar ergibt. Es kommt zur Ausbildung zweier diastereomerer Assoziationskomplexe, von denen einer energetisch begünstigt ist (6). Dieser Unterschied in der Enthalpie besagt jedoch nicht, daß die Natur deshalb nur einen optischen Antipoden akzeptiert. Falls sie beide annimmt, kann es aufgrund der unterschiedlichen Strukturen zu verschiedenen Wirkungen kommen (7). In einem Peptid kann die Inversion nur eines Asymmetriezentrums sowohl den vollständigen Verlust als auch die Verstärkung dessen biologischer Aktivität zur Folge haben. So wirkt beim Adrenalin die L-Form zehnmal stärker blutdrucksteigernd als die D-Form. Zur Heilung der Parkinson'schen Krankheit benutzt man ausschließlich L-DOPA, da die D-Form unwirksam ist. Die Unterschiede können sogar soweit gehen, daß ein Enantiomer als Medikament eingesetzt wird, während sein

Antipode toxisch ist, wie dies beim Penicillamin der Fall ist (8). Beim Contergan haben nachträgliche toxikologische Untersuchungen ergeben, daß die teratogene Wirkung des als Racemat eingesetzten Thalidomids stereospezifisch ausgelöst wurde (9,10). Diese und andere Beispiele belegen, wie wichtig es ist, Enantiomere zu trennen und auf ihre Wirkung hin zu untersuchen. Hierzu ist ein analytisches Verfahren notwendig, mit dem Racematanteile routinemäßig bestimmt werden können. Dieses Verfahren kann neben der Bestimmung des D-Anteils synthetischer Peptide zur Aufklärung von D-Aminosäuren in der Natur genutzt werden. Obwohl sich natürliche Proteine immer aus L-Aminosäuren zusammensetzen, findet man insbesondere bei Antibiotika Ausnahmen, bei denen D-Aminosäuren in die Sequenz eingebaut worden sind (11-13). Ein weiteres Anwendungsgebiet stellt die Datierung von geologischem Material mit biologischem Ursprung dar (14-19). Diese Möglichkeit ergibt sich durch den Übergang vom reinen Enantiomer zur racemischen Form, dem Zustand mit der höchsten Entropie.

Für die gaschromatographische Enantiomerentrennung bieten sich zwei Verfahren an:

1. Die Enantiomere werden mit einer optisch aktiven Verbindung derivatisiert und als Diastereomere an einer achiralen Säule getrennt (20,21), oder
2. die Enantiomere werden mit einer achiralen Verbindung derivatisiert und an einer chiralen Säule getrennt (22).

Obwohl für das erste Verfahren eine Reihe geeigneter diastereomerer Aminosäurederivate entwickelt worden sind (23-25), ist es doch mit einem wesentlichen Nachteil verbunden. Das Verfahren setzt nämlich für die chiralen Hilfsreagenzien hohe optische Reinheit voraus. Ansonsten kommt es zur Derivatbildung zwischen "gewünschtem" Enantiomer und "falschem" Hilfsreagenz sowie zwischen "ungewünschtem" Enantiomer und "richtigem" Hilfsreagenz. Man erhält somit

ein Enantiomerenpaar, das an einer achiralen Säule nicht getrennt werden kann. Wegen der ständig benötigten optisch reinen Hilfsreagenzien scheint dieses Verfahren auch aus Kostengründen für die Routineanwendung nicht geeignet. Aus den o.g. Gründen hat sich das zweite Verfahren, die direkte Trennung von Enantiomeren an chiralen stationären Phasen, als das bessere erwiesen und wird heute neben der Gaschromatographie in der Flüssig- und Hochdruckflüssigkeitschromatographie angewendet.

Die erfolgreiche gaschromatographische Enantiomerentrennung begann 1966 mit den Arbeiten von Gil-Av und Feibush (26). Diese belegten 50-100 m lange Glaskapillaren mit N-Trifluoracetyl-L-isoleucinlaurylester. Mit dieser Phase konnten die Aminosäuren Alanin, Valin und Leucin bei 80°C mit Retentionszeiten bis zu sieben Stunden getrennt werden. Ein entscheidendes Kriterium in der Entwicklung chiraler stationärer Phasen war deren thermische Stabilität. Denn die Erhöhung der thermischen Stabilität führt zu einer kürzeren Analysendauer sowie einer Auftrennung weniger flüchtiger Aminosäuren. Mit der Darstellung von Chirasil-Val (Handelsname) durch Frank, Nicholson und Bayer (27) erhielt man erstmals eine Phase, deren thermische Stabilität ausreichte, alle Proteinaminosäuren in einem einzigen Analysengang zu trennen (Fig.1)(28).

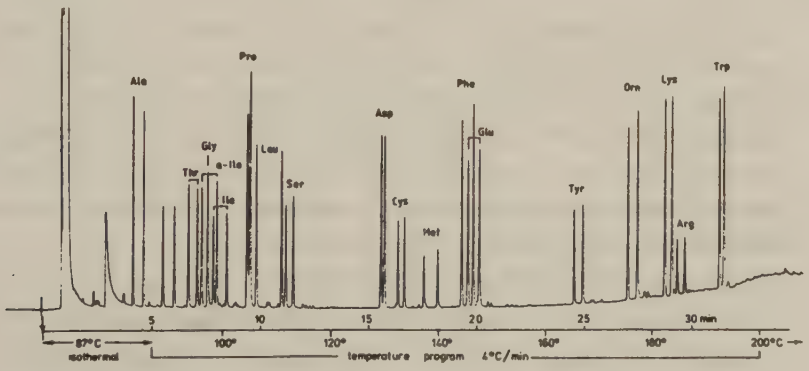


Fig.1: Enantiomerentrennung racemischer Aminosäuren an einer Chirasil-Val Kapillare (28)

Bei der stationären Phase Chirasil-Val handelt es sich um ein Copolymer aus Dimethylsiloxan und Carboxyalkylsiloxan, an das L-Val-t-butylamid als chirale Komponente gekuppelt worden ist (Fig.2)(29).

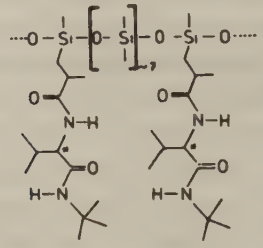


Fig.2: Struktur von Chirasil-Val (29)

Für die gaschromatographische Enantiomerentrennung müssen die Aminosäuren zuerst derivatisiert werden. Dabei ist zu beachten, daß neben der Flüchtigkeit für die diastereomeren Assoziationskomplexe unterschiedliche Stabilität gewährleistet ist. Perfluoracylierte Aminosäureester haben sich für die Enantiomerentrennung als besonders geeignet erwiesen (30,31). Es zeigt sich, daß der Assoziationskomplex des L-Enantiomers mit Chirasil-Val stabiler ist als der des D-Enantiomers. Der Grund hierfür liegt in der Bildung der maximalen Anzahl von Wasserstoffbrücken; die Anordnung entspricht dabei der Faltblattstruktur des ß-Keratins. Bei der D-Konfiguration des Substrates verläuft eine derartige Schichtung ungünstiger, d.h. das Enantiomer eluiert früher. Dies erklärt, warum in allen bisher untersuchten Fällen an einer L-Aminosäurephase das D- vor dem L-Enantiomer eluiert. In Fig.3 ist die Struktur eines solchen diastereomeren Assoziationskomplexes am Beispiel des O-PFP-L-Milchsäure-cyclohexylamids wiedergegeben (32).

Neben den α-Aminosäuren lassen sich an der chiralen Polysiloxan-Phase noch weitere chirale Verbindungsklassen trennen. So können z.B. α-Hydroxysäuren (33-36), Alkohole (33,37), Amine (33), Glykole (35) und Atropisomere (38)

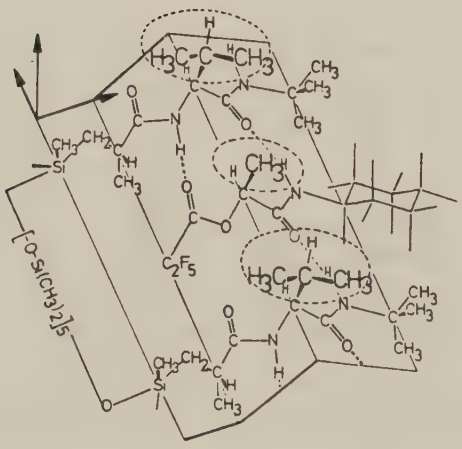


Fig. 3 gibt die Struktur des diastereomeren Assoziationskomplexes am Beispiel des *O*-Pentafluorpropionyl-L-milchsäure-cyclohexylamids wieder, das nach dem D-Enantiomer eluiert und dessen Assoziationskomplex mit Chirasil-L-Val stabiler als der Komplex mit dem D-Enantiomer ist. (32)

getrennt werden, ohne daß man Diastereomere darstellen muß. Von Interesse ist auch die Enantiomerentrennung von Arzneimitteln. Fig.4 zeigt ein Chromatogramm einiger Arzneimittel, die nun einfach und schnell auf ihre Enantiomerenanteile analysiert werden können. Die Anwendung bleibt nicht auf die qualitative Analyse beschränkt. Durch die Methode des Enantiomer-Labellings ist allgemein eine einfache quantitative Bestimmung aller Aminosäuren möglich (28,40). Die Genauigkeit liegt dabei über der der herkömmlichen Ionenaustauschchromatographie.

Als weiteres Anwendungsbeispiel sei die Kopplung einer Chirasil-Val-Säule mit dem Massenspektrometer erwähnt (32). Diese Möglichkeit ergibt sich durch das geringe Ausbluten der Phase und ihre hohe (kurzfristig bis 240°C) thermische Stabilität. Beispiele hierzu finden sich später in dieser Arbeit.

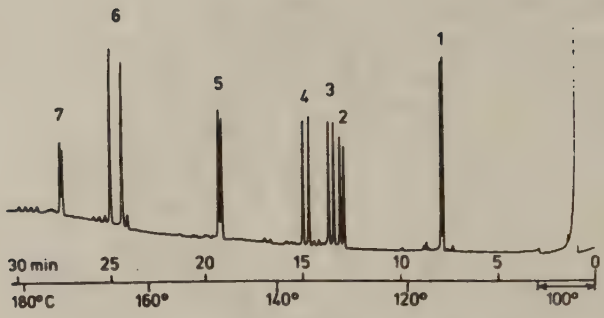


Fig.4: Gaschromatographische Enantiomerentrennung einiger Arzneimittel als N,O-PFP-Derivate an einer Chirasil-Val-Kapillare

1 = Phenyl-2-methylaminopropanol
2 = 1-(4'-Hydroxyphenyl)-2-methylaminopropanol
3 = 3'-Methoxy-4'-hydroxyphenylglykol
4 = 1-Phenyl-2-aminoethanol
5 = 1-(3'-Methoxy-4'-hydroxyphenyl)-2-methylaminoethanol
6 = 3,4-Dihydroxyphenylalaninisopropylester
7 = 1-(3',4'-Dihydroxyphenyl)-2-aminoethanol

In allen Fällen eluiert das D- vor dem L-Enantiomer (29)

Im Zuge der Weiterentwicklung wurde sowohl das Siloxan-Grundgerüst als auch die chirale Gruppe variiert, um die Phase noch universeller zu nutzen (33).

2. Problemstellung

Die Grundlage dieser Arbeit war die Darstellung von Chirasil-Val durch Frank, Nicholson und Bayer. Im Rahmen der vorliegenden Dissertation sollten zwei Themenkreise behandelt werden.
Der Schwerpunkt lag dabei auf dem ersten Teil, der sich auf den Syntheseweg der chiralen Polysiloxanphase bezieht. Ziel der Darstellung war die reproduzierbare Synthese einer Phase, die sämtliche Aminosäureenantiomere auftrennt, wobei Coeluierung auszuschließen ist. Um zu einer Optimierungsvorschrift zu gelangen, waren die einzelnen Stufen des Syntheseweges zu untersuchen. Die Struktur der dabei benutzten Copolymere sollte durch Darstellung von Modellpolymeren und -phasen geklärt werden.
Ein weiterer Aspekt war die Herstellung gebrauchsfertiger Chirasil-Val-Kapillaren. Neue Desaktivierungsmethoden und Quervernetzung der Phase in der Kapillare sollten zur Verbesserung von Trennleistung und thermischer Stabilität führen.

Der zweite Teil befaßte sich mit einem neuen Anwendungsgebiet für Chirasil-Val. In einer früheren Arbeit (39,41) wurde über die Trennung der vier möglichen Isomere des Methionin-S-oxids berichtet. In diesem Molekül liegt neben dem chiralen Kohlenstoff noch ein chirales Schwefelatom vor. Es sollte untersucht werden, ob die Erkennung der Chiralität mit der Existenz des chiralen Kohlenstoffs verknüpft ist oder ob auch Enantiomere, die lediglich ein Schwefelatom als Asymmetriezentrum besitzen, getrennt werden können. Sollte sich letzteres bestätigen, könnte somit die breite Palette chiraler Schwefelverbindungen (wie Sulfoxide, Sulfoximine, Sulfimine, Sulfite, Sulfensäureester, Sulfurane usw.) der gaschromatographischen Enantiomerentrennung an einer Chirasil-Val-Säule zugänglich gemacht werden.

I. Synthese von Chirasil-Val

Der allgemeine Syntheseweg für Chirasil-Val ist in Fig.5 dargestellt.

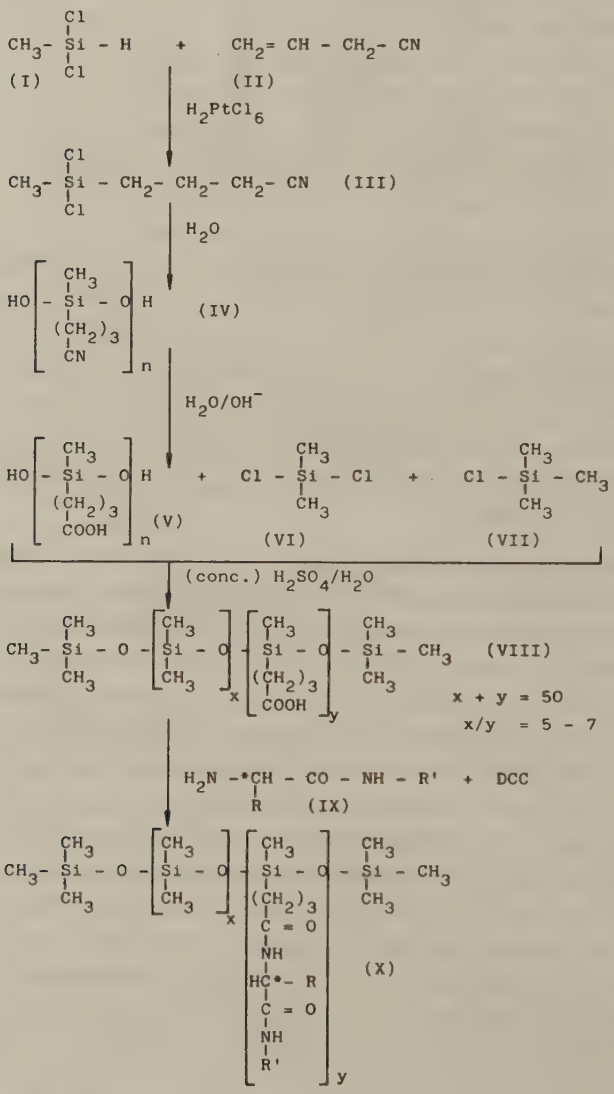


Fig.5: Schematischer Gang der Synthese für Chirasil-Val.

Durch Hydrosilylierung von Allylcyanid (II) mit Dichlormethylsilan (I) erhält man, mit Hexachloroplatinsäure als Katalysator, Dichlorcyanopropylmethylsilan (III). Durch Hydrolyse der Si-Cl Bindungen kommt es zur Polymerisation (IV). Nach Verseifen der Nitrilgruppen mit konz. NaOH wird das carboxyfunktionalisierte Polymer (V) mit Dichlordimethylsilan (VI) äquilibriert. Die gewünschte Kettenlänge erhält man dabei durch Zugabe einer definierten Menge Chlortrimethylsilan (VII). Das erhaltene Copolymer (VIII) wird im nächsten Schritt durch eine Peptidbindung mit L-Val-t-butylamid (IX) verknüpft. Nach erfolgter Reinigung kann die stationäre Phase (X) unmittelbar für die Enantiomerentrennung genutzt werden.

Der Weg über ein carboxyfunktionalisiertes Siloxan läßt sich nicht vermeiden, da bei der Hydrierung käuflicher Silicone mit Nitrilgruppen unkontrollierbare Depolymerisationen ablaufen. Noll (53) beschreibt die Umsetzung eines Polysiloxans mit Lithiumaluminiumhydrid wie folgt: "Wahrscheinlich verläuft die Umsetzung derart, daß unter Abspaltung von Silan die Siloxan- in eine Alumosiloxanbindung überführt wird:

$$\text{Si - O - Si} \quad + \xrightarrow{LiAlH_4} \quad \text{Si - H} \quad + \quad \text{Al - O - Si}$$

womit sie in Analogie zur Spaltung der Siloxanbindung mit Aluminiumhalogeniden tritt (74)".

Im folgenden sollen die eben erwähnten Schritte in Hinblick auf eine Optimierungsvorschrift untersucht werden. Denn eine bezüglich der Retentionsrate reproduzierbare Herstellung von Chirasil-Val machte immer noch Schwierigkeit.

1.1. Hydrosilylierung von Dichlormethylsilan mit einem cyano- oder methylesterfunktionalisierten Olefin

Während die erste Addition eines Silans an ein Olefin (Trichlorsilan und 1-Okten, 1947 (42)) noch mit Diacetylperoxid durchgeführt wurde, hat sich in den letzten Jahren

gezeigt, daß für die Hydrosilylierung Hexachloroplatinsäure der Katalysator der Wahl ist (43,44). Als Olefinkomponente für die Chirasil-Val-Synthese werden folgende vier Verbindungen mit Dichlormethylsilan umgesetzt: Methacrylsäuremethylester, Allylcyanid, Vinylessigsäuremethylester und Methacrylonitril.
Entsprechend dem Abfall der Reaktivität in der Reihe

$$HC \equiv C- \quad > \quad H_2C = CH- \quad > \quad H_2C = \underset{\displaystyle CH_3}{\overset{\displaystyle |}{C}}- \qquad (45)$$

reagieren die linearen Verbindungen besser als die verzweigten. Es zeigt sich ebenfalls, daß die Ester leichter reagieren als die Cyanoverbindungen. So verlaufen die Reaktionen mit Vinylessigsäuremethylester recht heftig, wogegen man mit Methacrylonitril keinerlei Umsatz feststellt. Jedoch kann durch Verwendung eines Katalysators auf Aminbasis eine Umsetzung mit Methacrylonitril erreicht werden (47). Es handelt sich hierbei um ein Dreikomponenten-Katalysator-System, bestehend aus Tetramethylethylendiamin, Kupfer(I)chlorid und Tributylamin im molaren Verhältnis 0,007 : 0,02 : 0,017. Die Ergebnisse der durchgeführten Synthesen sind in Tabelle 1 festgehalten.

Die Aufklärung des Hydrosilylierungsmechanismus mit Hexachloroplatinsäure erfolgte durch Untersuchungen von Speier (48-50) sowie Chalk und Harrod (51). Beide Gruppen formulieren eine Zwischenstufe, in der sowohl Olefin als auch Silan am Platin gebunden ist. Aus dieser Zwischenstufe kommt es entweder zur Abspaltung des Olefins oder aber zur Produktbildung. Fig.6 bringt dies noch einmal zum Ausdruck.

Tabelle 1:

Addition von Dichlormethylsilan an die Doppelbindung von: Methacrylsäuremethylester (MM), Allylcyanid (AC), Vinylessigsäuremethylester (VE) und Methacrylonitril (MN).

	Ausbeute (Kat.A*) Lit./Gef.	Ausbeute (Kat.B**) Lit./Gef.	Produkt	Sdp.°C/mm
MM	65% / 59%	- / -	$H_3C-SiCl_2-CH_2-CH(COOCH_3)-CH_3$	101°C/25
AC	70% / 65%	0% / 0%	$H_3C-SiCl_2-(CH_2)_3-CN$	132°C/25
VE	- / 76%	- / -	$H_3C-SiCl_2-(CH_2)_3-COOCH_3$	96°C/11
MN	0% / 0%	15% / 7%	$H_3C-SiCl_2-CH_2-CH(CN)-CH_3$	97°C/21

(-) = Reaktion wurde nicht durchgeführt.

*) Kat.A = Hexachloroplatinsäure in Isopropanol (46)

**) Kat.B = Tetramethylethylendiamin, Kupfer (I) chlorid und Tributylamin im molaren Verhältnis 0,007 : 0,02 : 0,017 (47).

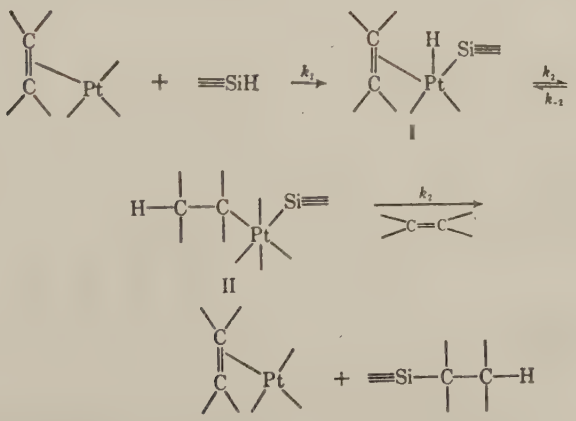
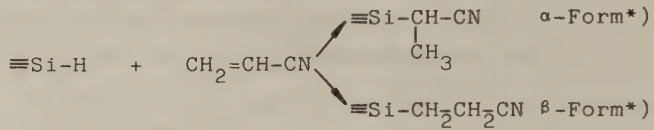


Fig.6: Mechanismus der Hydrosilylierung mit H_2PtCl_6 (52)

Der Mechanismus gibt allerdings keine Auskunft darüber, ob es ausschließlich zur Bildung des gewünschten "Anti-Markownikow-Produktes" kommt. So weiß man, daß bei der Addition von Trichlorsilan an Acrylnitril neben der α-Form die β-Form entsteht.



(* Zur Zählung der α-und β-Stellung bei Cyanoorganosilanen und Carboxyorganosilanen siehe: W.Noll, Chemie und Technologie der Silicone (53))

Da die Chlorsilane sofort entsprechend Fig.5 hydrolisiert werden, erschwert das die Überprüfung eines eventuell vorhandenen "Markownikow-Produktes". Deshalb soll bereits an dieser Stelle die Darstellung von α,ω-Dibutyronitril - tetramethyldisiloxan erwähnt werden. Dieses Produkt erhält man durch Hydrolyse von Chlordimethylsilylbutyronitril, welches wiederum durch Hydrosilylierung von Chlordimethylsilan und Allylcyanid entsteht. Das Produkt wird nach der Destillation zuerst gaschromatographisch an einer SE-52 Kapillare, danach mittels GC/MS -Kopplung massenspektrometrisch untersucht. Man findet drei Hydrolyseprodukte und kann aus der Produktverteilung die eingesetzten Monochlorverbindungen bestimmen. Es zeigt sich, daß bei der Addition des Silans an Allylcyanid das "Anti-Markownikow-Produkt" zu 96,6% und das "Markownikow-Produkt" zu 3,4% entstanden sein muß. Entsprechendes dürfte für die Umsetzung der in Tabelle 1 aufgelisteten Reaktionen zu erwarten sein.

Die Chirasil-Val-Synthese beginnend mit der Darstellung von Dichlormethylsilylbuttersäuremethylester und Dichlormethylsilylmethacrylonitril wird zum ersten Mal durchgeführt. So war ein Vergleich dieser Phasen sowohl untereinander als als auch mit den beiden anderen Phasen von besonderem Interesse.

Deshalb werden die Restbedingungen der Synthese, außer der Verseifung der Ester- bzw. Nitrilgruppe, standardisiert, um einen Vergleich der Phasen zu ermöglichen. In Fig.7a und 7b sind die Chromatogramme, in Fig.8a und 8b die IR-Spektren von Chirasil-Val VE und Chirasil-Val MN wiedergegeben.

(Zur Schreibweise: Im folgenden soll aus der Abkürzung hinter Chirasil-Val die eingesetzte Dichlormethylsilylverbindung zum Ausdruck gebracht werden. So steht VE für Vinylessigsäuremethylester, MN für Methacrylonitril, MM für Methacrylsäuremethylester und AC für Allylcyanid.)

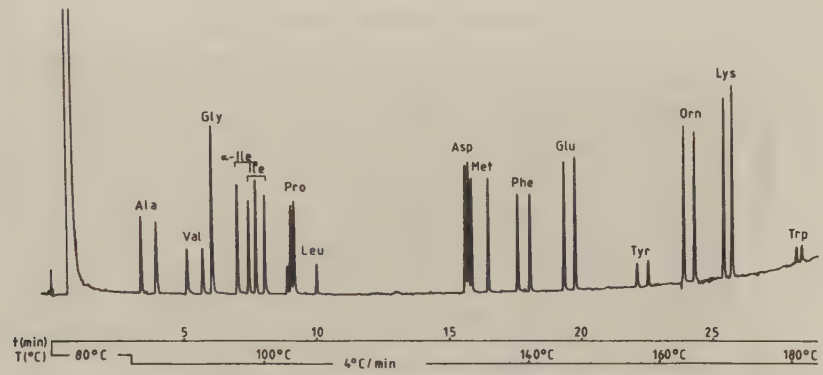


Fig.7a: Trennung eines Aminosäuretestgemisches an Chirasil-Val VE

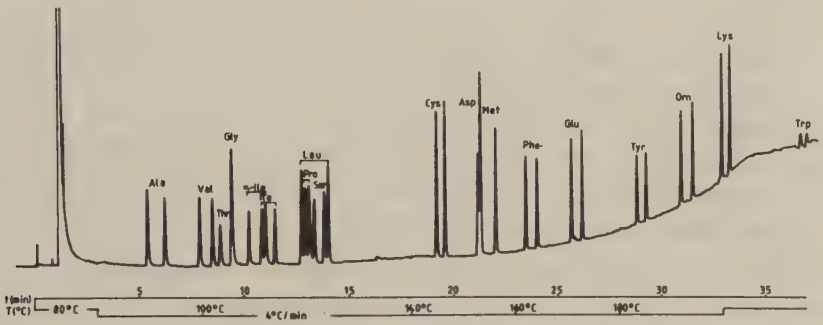


Fig.7b: Trennung eines Aminosäuretestgemisches an Chirasil-Val MN

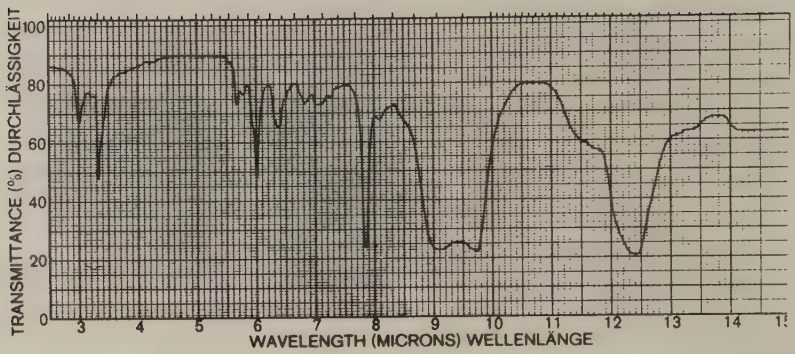


Fig.8a: IR-Spektrum von Chirasil-Val VE

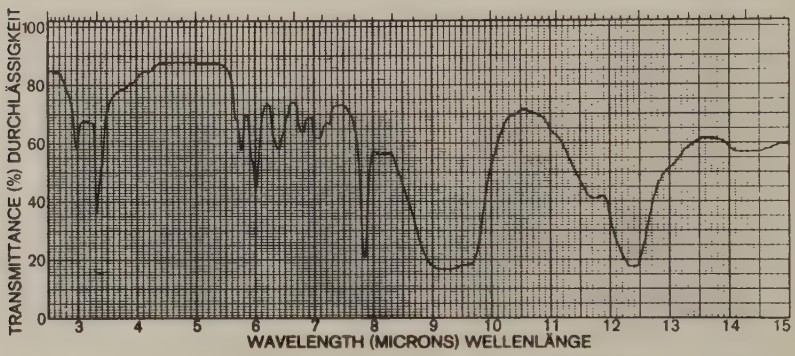


Fig.8b: IR-Spektrum von Chirasil-Val MN

Bei den zu trennenden Derivaten in Fig.7a und 7b handelt es sich um die N,O,S-PFP/n-Propylester. Der Säulenvordruck für 20 m lange Glaskapillaren beträgt dabei 0,4 kg/cm² Wasserstoff. Für das Temperaturprogramm gilt: zuerst 80°C (3 Minuten isotherm), danach wird mit einer Aufheizrate von 4°C/Minute bis 200°C geheizt. Diese Angaben werden für die folgenden Chromatogramme in dieser Weise notiert:

Derivate: N,O,S-PFP/n-Propylester

P_1 = 0,4 kg/cm² H_2

T = 80/3/4/200°C

Als Ergebnis läßt sich festhalten, daß alle vier Ausgangsverbindungen für die Chirasil-Val-Synthese geeignet sind.

Während für Methacrylsäuremethylester, Vinylessigsäuremethylester und Allylcyanid die IR-Spektren der stationären Phasen nahezu gleich sind, ergibt sich für Methacrylonitril eine Abweichung in der Doppelbande zwischen 1000 und 1100 cm^{-1}. Diese Doppelbande ist charakteristisch für ein Silikongerüst, in dem mehr als 10 Si-O-Si Bindungen vorliegen (53). Dies legt die Vermutung nahe, daß sich diese Phase gegenüber den anderen in der Silikonstruktur unterscheidet. Eine Deutung dieses Sachverhaltes sowie eine ausführliche Interpretation der IR-Spektren folgt später.

1.2. Verseifung der Nitril- bzw. Estergruppe

Der zweite Schritt, die Hydrolyse der Dichlormethylsilylnitrile bzw. -ester zum Polymer, verläuft für alle Verbindungen gleich und unproblematisch. Die Dichlorsilane werden wegen ihrer ausgeprägten Eigenschaft, bereits mit der Luftfeuchtigkeit zu reagieren und zu polymerisieren, sofort in Benzol oder Toluol aufgenommen. Die Lösung wird anschließend unter Rühren zu einer Mischung aus Eis und Wasser zugetropft, wobei das Polymer als schneeweißer salbenartiger Niederschlag ausfällt.

Für die Verseifung mit NaOH müssen unterschiedliche Bedingungen eingehalten werden. Ob drastisch (Rückflußkochen mit 4 N NaOH) oder mild (am pH-Stat bei pH = 11) verseift wird, bestimmt der Abstand der zu verseifenden Gruppe vom Si-Atom. Durch die stark negative Cyanogruppe wird die Si-C Bindung geschwächt (das gilt formal auch für die entsprechende Carbonylverbindung). So wird die Cyanomethylgruppe in $NC-CH_2-Si(CH_3)_3$ bereits durch kochendes Wasser abgespalten (54). In den entsprechenden β - und γ-Cyanoverbindungen hingegen bewirkt die Hydrolyse keine Si-C Spaltung, vielmehr nur Verseifung der CN-Gruppe (55).

$$NC-CH_2-CH_2-Si(CH_3)_3 \xrightarrow[C_2H_5OH]{NaOH} HOOC-CH_2-CH_2-Si(CH_3)_3 \quad (55)$$

Entsprechend konnten die Polymere mit Butyronitril- bzw. Methacrylonitrilresten durch Rückflußkochen mit 4 N NaOH verseift werden. Während dieser Weg für das Buttersäuremethylesterderivat ebenfalls geeignet ist, wird die Verseifung des Methacrylsäuremethylesterderivates wegen der geschwächten Si-C Bindung am pH-Stat bei pH = 11 durchgeführt (33). Dieser Weg ist allerdings nicht nur zeitaufwendig (nach vier Wochen liegen noch erhebliche Esteranteile vor); der wesentliche Nachteil ist die schlechte Reaktionskontrolle. Während das Ende der Nitrilverseifung bzw. Ammoniakentwicklung nach ca. vier Stunden mit pH - Papier nachgewiesen werden kann (33), soll die Methylesterverseifung IR-spektroskopisch über die Carbonylschwingung erfolgen. Die IR-Spektren in Fig.9a-c deuten darauf hin, daß die Verseifung nach vier Wochen abgeschlossen ist.

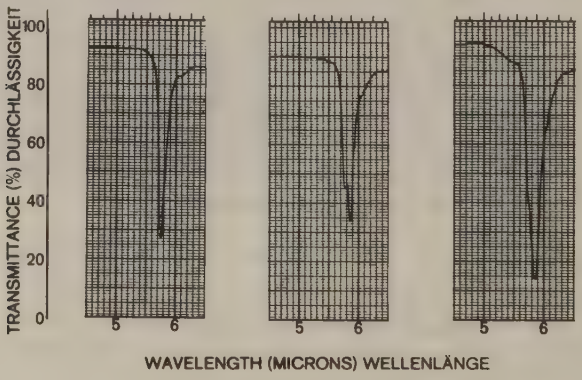
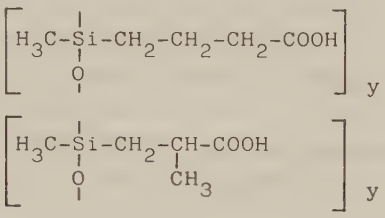


Fig.9a Fig.9b Fig.9c

Fig.9a-c:
IR-Spektroskopische Verfolgung der Carbonylbanden
a: zu Beginn der Verseifung
b: nach zwei Wochen
c: nach vier Wochen

Eine zusätzliche ^{1}H-NMR Messung beweist jedoch, daß noch ca. 40% Estergruppen im Polymer enthalten sind. Das Polymer

wird daraufhin mit der vierfachen Menge NaOH pro Carboxyfunktion zwei Tage lang in Methanol unter Rückfluß erhitzt. Die ^{1}H-NMR Kontrolle ergibt quantitativen Umsatz des Esters zur Säure,und das IR-Spektrum zeigt, daß die Si-C Bindung nicht in Mitleidenschaft gezogen wird. Durch die Verseifung von Nitril- und Estergruppe erhält man folgende Polymere:



1.3. Darstellung der Copolymere

Bei der Äquilibrierung kommt es im Molekül zu einer statistischen Verteilung von funktionellen Gruppen (y) mit Dimethylsiloxyeinheiten (x). Dabei ist zu berücksichtigen, daß Erhöhung der funktionellen Gruppen zwar zu einer Erhöhung der Trennfaktoren führt, andererseits eine zu hohe Konzentration funktioneller Gruppen viskosere Phasen und damit verbunden höhere Anfangstemperaturen liefert. In der Praxis hat sich für das Verhältnis von y:x=1:6 bewährt. In einigen Fällen werden mit y:x=1:5 auch noch recht gute Ergebnisse erzielt.

(Zum leichteren Verständnis soll an dieser Stelle ein Einschub vorgenommen werden, in dem auf die übliche Schreibweise in der Siloxanchemie eingegangen wird. "M" steht für eine monofunktionelle, "D" für eine difunktionelle, "T" für eine trifunktionelle und "Q" für eine quatrofunktionelle Siloxaneinheit - wobei normalerweise z.B. mit "D" die Dimethylsiloxyeinheit assoziiert wird. Während man also Hexamethyldisiloxan mit "MM" und Oktamethyltrisiloxan mit "MDM" bezeichnet, repräsentiert "D_4" das cyclische Oktamethylcyclotetrasiloxan.)

Für die Copolymerisation bieten sich sowohl säure- als auch basenkatalysierte Reaktionen an. Für welchen Katalysator man sich letztlich entscheidet, hängt von mehreren Faktoren ab. Hierzu gehören z.B. die Reaktivität der zu äquilibrierenden Siloxane oder die Entscheidung, ob in Lösung oder lösungsmittelfrei äquilibriert wird. Untersuchungen bezüglich der unterschiedlichen zeitlichen Reaktionsabläufe bei säure- und basenkatalysierten Polymerisationen wurden bereits durch Kantor, Grubb und Osthoff durchgeführt (53,58). Fig.10 zeigt den Viskositätsverlauf der Äquilibrierung von D_4 und MM, sowie D_3 und MM mit jeweils 4% Schwefelsäure bei 25°C.

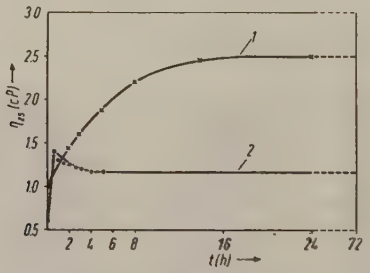


Fig.10 Viskositätsverlauf bei der Äquilibrierung von Polymethylsiloxanen mit Schwefelsäure (nach Werten von S. W. Kantor, W. T. Grubb und R. C. Osthoff (53,58))

Kurve 1: Äquilibrierung von M_2 und D_4 im Molverhältnis 1:1
Kurve 2: Äquilibrierung von M_2 und D_3 im Molverhältnis 1:0,55

Der Effekt des schnellen Anstiegs der Viskosität bei D_3 ist auf das große Reaktionsvermögen des D_3-Moleküls gegenüber der Säure zurückzuführen. Der Ring des Trisiloxans wird rascher aufgespalten als das Molekül des Hexamethyldisiloxans, so daß als Folge der Katalyse zunächst kräftiges Kettenwachstum stattfindet. Erst in dem Maße, wie auch M-Einheiten zunehmend in die Reaktion eingeführt werden, werden die Ketten verkürzt, bis das molekulare Gleichgewicht hergestellt ist. Überwiegen also in der Zeit des ersten raschen Anstiegs

der Viskosität Reaktionen vom Typ

$$MM + n/3\ D_3 \longrightarrow MD_nM \text{ (n groß)}$$

so folgen in der Phase des Absinkens der Viskosität und Endwerteinstellung Äqulibrierungsreaktionen,die nach

$$MD_nM + MM \longrightarrow MD_{n-1}M + MDM$$

$$MD_{n-1}M + MDM \longrightarrow MD_{n-2}M + MD_2M \text{ usw.}$$

ablaufen (53). Es zeigt sich, daß die Reaktionsfähigkeit mit sauren Katalysatoren in der Reihe

$$D_3 > MM > MDM > MD_2M > D_4$$

abnimmt (58).

Fig.11 dagegen zeigt die Äqulibrierung derselben Siloxane wie in Fig.10, allerdings in einem anderen molaren Verhältnis und mit Tetramethylammoniumhydroxid als Katalysator bei 80°C (53,58).

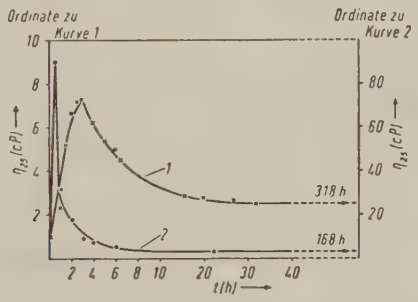


Fig.11 Viskositätsverlauf bei der Äquilibrierung von Polymethylsiloxanen mit Tetramethylammoniumhydroxyd (nach Werten von S. W. Kantor, W. T. Grubb und R. C. Osthoff (53, 58))
Kurve 1: Äquilibrierung von M_2 und D_4 im Molverhältnis 1:1
Kurve 2: Äquilibrierung von M_2 und D_3 im Molverhältnis 1:1,33

Der Verlauf der Viskosität zeigt in dieser Graphik, daß zunächst eine Kettenverlängerung gemäß

$$MM + n/4\ D_4 \longrightarrow MD_nM$$

überwiegt und daß erst im weiteren Verlauf Äqulibrierungsreaktionen des Typs

$$MD_nM + MM \longrightarrow MD_{n-1}M + MDM$$

$$MD_{n-1}M + MDM \longrightarrow MD_{n-2}M + MD_2M \quad \text{usw.}$$

einsetzen. Systematische Untersuchungen dieser Art haben gezeigt, daß die Reaktivität verschiedener niedermolekularer Methylsiloxane gegenüber Basen in der Reihenfolge

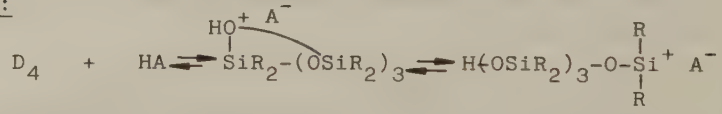
$$D_3 > D_4 > MD_2M > MDM > MM$$

abnimmt (58).

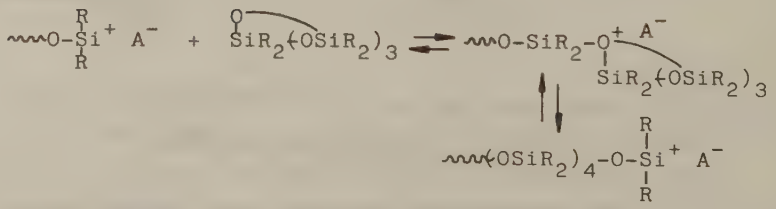
Die Mechanismen für die kationische und anionische Polymerisation stellt man sich dabei wie folgt vor:

a) Mechanismus der kationischen Polymerisation unter Ringöffnung (59)

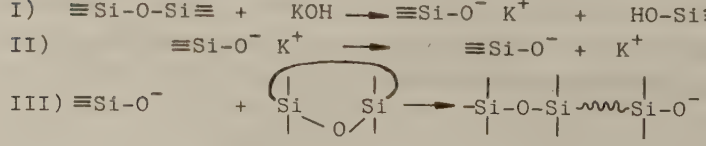
Start:



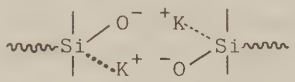
Fortpflanzung:



b) Mechanismus der anionischen Polymerisation unter Ringöffnung (60)

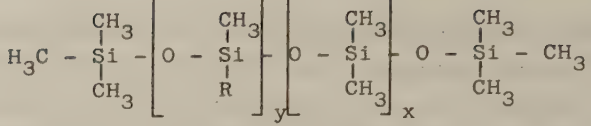


Für die Copolymere zur Chirasil-Val-Synthese bietet sich die säurekatalysierte Äquilibrierung aus mehreren Gründen an. Wie aus Fig.11 ersichtlich ist, wird unmittelbar nach Beginn der Äquilibrierung eine Viskosität erreicht, die weit über der des Endpolymers liegt. Dies kann dazu führen, daß sich entweder kein Gleichgewichtszustand einstellt oder aber sehr lange Äquilibrierungszeiten in Kauf genommen werden müssen. Desweiteren kann es bei Verwendung von Alkalihydroxiden zur Bildung stabiler Assoziate (61)



kommen, die im weiteren Verlauf der Synthese störend wirken. Zudem werden die meisten basenkatalysierten Äquilibrierungen in Lösung durchgeführt. Dieser Umstand ist, wie später ausführlicher gezeigt wird, nicht wünschenswert.

Für die säurekatalysierte Darstellung des Copolymers hat man im wesentlichen zwei Methoden zur Wahl. Zum einen kann die Äquilibrierung des Carboxyalkylmethylpolysiloxans mit Oktamethylcyclotetrasiloxan, Hexamethyldisiloxan und Schwefelsäure durchgeführt werden (56). Zum anderen bietet sich eine modifizierte Methode nach Schnurrbusch (57) an. Bei dieser Methode wird Carboxyalkylmethylpolysiloxan, Hexamethyldisiloxan und Schwefelsäure vorgelegt. Nach Zugabe der entsprechenden Menge Dichlordimethylsilan wird die äquivalente Menge Wasser in kleinen Portionen zugegeben. Diese stöchiometrische Menge Wasser wird zweckmäßig nicht überschritten, damit die Aktivität der entstehenden Salzsäure als Äquilibrierungskatalysator erhalten bleibt.
Die Kettenlänge des Copolymers wird bei beiden Methoden durch eine entsprechende Menge Hexamethyldisiloxan eingestellt. In der Regel wird x+y = 50 gewählt, so daß sich mit der funktionellen Gruppe eine mittlere Molekularmasse um 5000 ergibt. Man erwartet so Copolymere folgenden Typs:



mit R = $-(CH_2)_3-COOH$ bzw.

= $-CH_2-\underset{CH_3}{CH}-COOH$

Die beiden Methoden unterscheiden sich im wesentlichen

1. in der Reaktionsdauer und
2. in der Darstellung eines Copolymers mit definiertem Verhältnis y:x.

Die Äquilibrierung mit D_4 dauert selbst für kleine Mengen in der Regel drei Wochen, manchmal sogar noch länger. Die verminderte Reaktivität des Carboxyalkylmethylpolysiloxans bewirkt, daß sich dieses bei Abbruch der Äquilibrierung nicht immer vollständig umgesetzt hat; die Folge davon sind Copolymere mit erhöhtem Verhältnis y:x.
Im Gegensatz hierzu läßt sich die Äquilibrierung nach Schnurrbusch an einem Tag durchführen. Durch den Verlust von flüchtigem Dichlordimethylsilan erhält man Copolymere mit kleinerem Verhältnis y:x (der Verlust beträgt max.10%). Der Verdacht, daß stationäre Phasen, die aus solchen Copolymeren (nach Schnurrbusch) dargestellt worden sind, Serin oder andere Aminosäuren mit SH- oder OH-Funktion zerstören und nicht eluieren (33),konnte nicht bestätigt werden. Aus den oben genannten Gründen wurde deshalb für fast alle Phasen die Äquilibrierungsmethode nach Schnurrbusch bevorzugt.

Die Struktur des Copolymers und damit verbunden die Struktur der stationären Phase ist für den Trennmechanismus außerordentlich wichtig. Eine erste ausführliche Beschreibung bezüglich der Verteilung der funktionellen Gruppen am Polymer erfolgte durch Koppenhöfer (38). Wie dort ausgeführt wird, folgt die statistische Anordnung der funktionellen Gruppen an der Polymerkette den Gesetzen der

geometrischen Verteilung, wobei mögliche Abweichungen, eventuell bedingt durch energetische Faktoren, vernachlässigt werden. Die Betrachtungen sind für drei Phasen mit y:x = 1:5, 1:7 und 1:10 durchgeführt und in Fig.12a und b graphisch festgehalten.

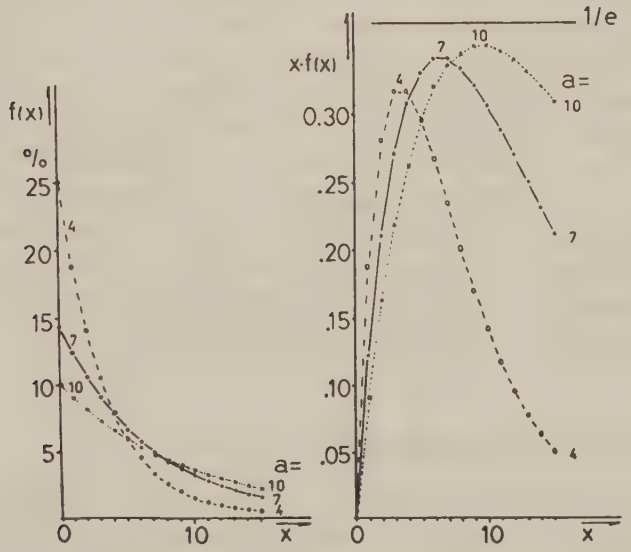


Fig.12a: (38)
Prozentuale Häufigkeit f(x) der Abstände x der funktionellen Gruppen

Fig.12b: (38)
Beitrag x·f(x) der einzelnen Abstände zum mittleren Abstand $\bar{x}$

Der prozentuale Anteil (Häufigkeitsfunktion f(x)) der einzelnen Abstände ist in Fig.12a wiedergegeben: kürzere Abstände dominieren gegenüber längeren. Der Beitrag der einzelnen Abstände zum mittleren Abstand (x·f(x)→statistisches Moment 1. Ordnung, Fig.12b) zeigt dagegen ein ausgeprägtes Doppelmaximum bei x = a-1 und x = a (38).

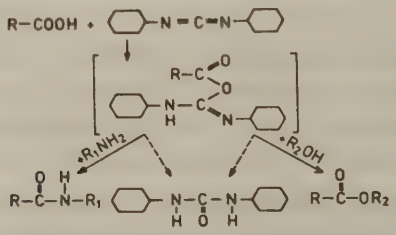
Bezüglich dieser Vorhersage muß unter Vorwegnahme zweier experimentell ermittelter Ergebnisse (eine Ausführung folgt in Kapitel A.II.) eine Korrektur durchgeführt werden.

Wie bereits 1950 durch Jacobson und Stockmayer (62) generell gezeigt, erhält man bei der Äquilibrierung von Polysiloxanen neben einer homologen Reihe linearer Moleküle eine homologe Reihe cyclischer Siloxane. Die Verteilung der beiden Reihen wird dabei durch zwei unterschiedliche mathematische Funktionen beschrieben. Die gaschromatographische Analyse ergibt neben homologen Reihen linearer und cyclischer Siloxane mit funktionellen Gruppen noch homologe Reihen linearer und cyclischer Siloxane ohne funktionelle Gruppen, die im Äquilibrium alle nebeneinander vorliegen. Das Vorhandensein von Siloxanen ohne funktionelle Gruppen bedeutet aber, daß bezüglich der Häufigkeit der Abstände für Moleküle mit funktionellen Gruppen eine drastische Verschiebung zu kleineren Werten nötig ist. Entsprechend verschiebt sich das Maximum in Fig.12b zu kleineren Werten von x.

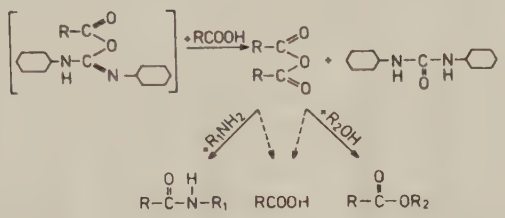
1.4. Einfluß des Kupplungsreagenzes

Nach der Copolymerdarstellung erfolgt die Knüpfung der Peptidbindung zwischen der Carboxygruppe des Polysiloxans und der Aminogruppe der chiralen Einheit (L-Val-t-butylamid). Als Kupplungsreagenz kann sowohl DCC als auch CDI verwendet werden. Die Kupplungsmechanismen stellt man sich wie folgt vor:

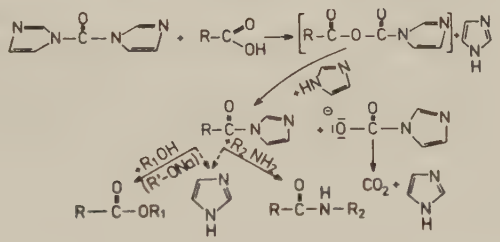
a) DCC-Kupplung mit -COOH : DCC = 1:1 (63,64)



b) DCC-Kupplung mit -COOH : DCC = 2:1 (65,66)



c) CDI-Kupplung (67)



Bei der Kupplung mit DCC muß zur chiralen Komponente eine äquimolare Menge N-Methylmorpholin in mehreren Portionen zugegeben werden. Als Nebenreaktion tritt an sterisch gehinderten Molekülen die Bildung von N-Acylharnstoff auf. Diese Bildung mag der Grund dafür sein, warum mit DCC gekuppelte stationäre Phasen polarer sind als solche, die mit CDI gekuppelt sind. Ein weiterer Grund für die unterschiedliche Polarität dürfte in der unterschiedlichen Kupplungsausbeute liegen. Mit CDI gekuppelte Phasen weisen gegenüber DCC gekuppelten Phasen einen kleineren Anteil unumgesetzter Carboxygruppen auf (33). Fig.13a und b zeigen den Einfluß des Kupplungsreagenzes auf die Polarität der Phase. In Fig.13a werden Aminosäuren an einer Phase getrennt, die durch Kupplung von Poly-(ß-methylsiloxy-isobuttersäure)-Copolymer 1:5 mit L-Val-t-butylamid entstanden ist. Als Kupplungsreagenz wurde CDI benutzt. Für die Kupplung desselben Copolymers mit DCC als Kupplungsreagenz erhält man

das in Fig.13b gezeigte Chromatogramm.

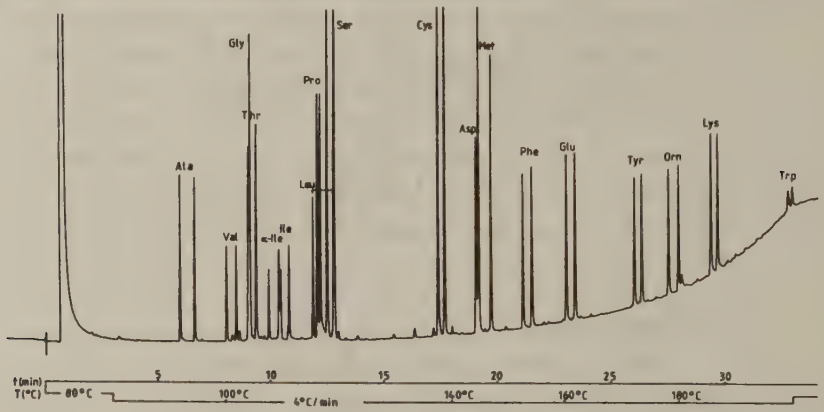


Fig.13a: Trennung racemischer Aminosäuren. Kupplungsreagenz für die stationäre Phase war CDI.

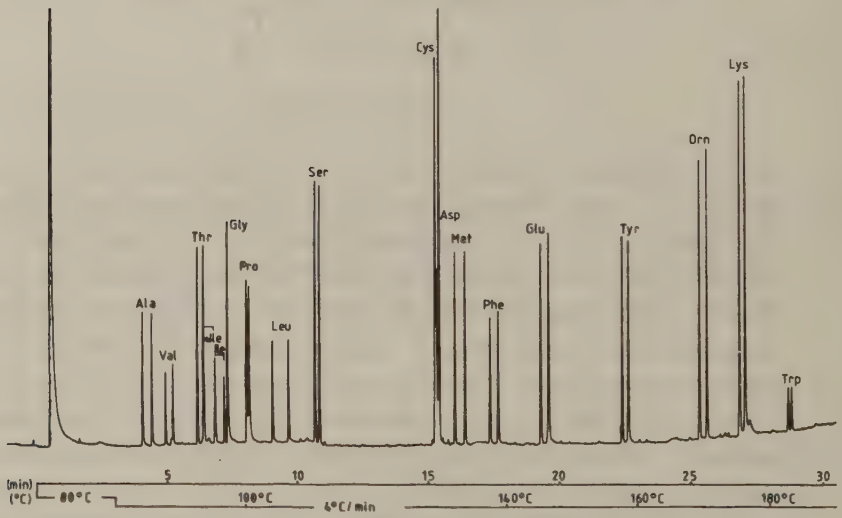


Fig.13b: Trennung racemischer Aminosäuren. Kupplungsreagenz für die stationäre Phase war DCC.

Zu Fig.13a und b: Derivate: N,O,S-PFP/n-Propylester

p_i = 0,4 kg/cm² H_2 (20 m Kapillare)

T = 80/3/4/200°C

Stationäre Phase für 13a: Chirasil-Val 1:5 b
für 13b: Chirasil-Val 1:5 a

(Zur Schreibweise: Im folgenden soll hinter Chirasil-Val das Verhältnis von funktionellen Gruppen zu Dimethylsiloxyeinheiten und die Kupplungsmethode zum Ausdruck gebracht werden. Dabei steht a für DCC und b für CDI als Kupplungsreagenz.)

Obwohl die Polarität der Phase vom benutzten Kupplungsreagenz abhängt, ist sie für ein definiertes Copolymer doch reproduzierbar. Unterschiedliche Polaritäten für eine Kupplungsmethode ergeben sich deshalb durch Verwendung unterschiedlicher Copolymere und nicht durch den Kupplungsschritt selbst. Damit die Phase für die Aminosäuretrennung optimal genutzt werden kann, muß nachträglich eine Korrektur der Polarität durchgeführt werden. Diesbezüglich werden zwei Möglichkeiten näher untersucht:

1. Veränderung der Polarität durch Zugabe eines polaren Modifikators zur stationären Phase,
2. Bildung einer Mischphase durch gezielte Mischung von DCC- mit CDI gekuppelten Phasen.

1.5. Veränderung der Polarität durch Zugabe eines polaren Modifikators

In diesem Zusammenhang sind besonders die Ergebnisse von Thumm (33) hervorzuheben. In seinen ausführlichen Untersuchungen hat er im wesentlichen zwei Möglichkeiten der Polaritätskorrektur beschrieben: zum einen den Einfluß von Phenylgruppen im Copolymer, zum anderen die Zugabe von Poly-(γ-methylsiloxy-buttersäure-n-butylamid) zur stationären Phase. Die Verschiebung der Elutionsreihenfolge durch Variation des Phenylgehalts der stationären Phase sowie die Bestimmung der Kovats-Indices wird in Fig.14 graphisch festgehalten.

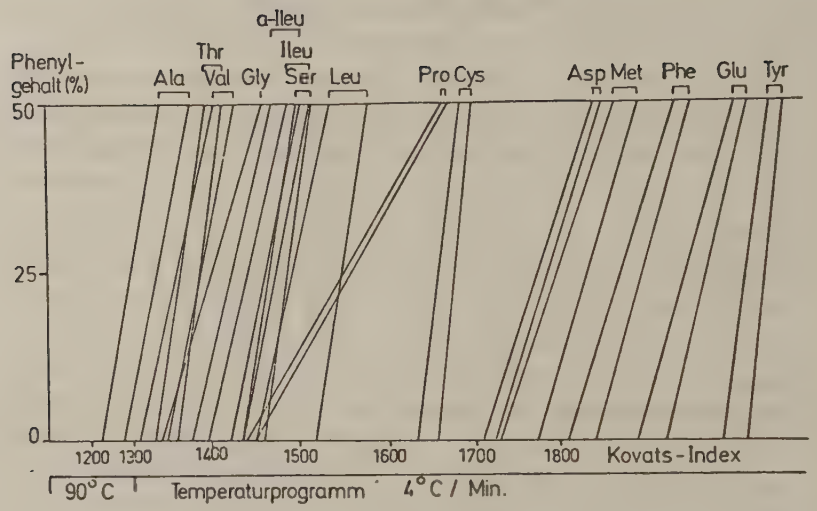


Fig.14: Verhalten der D,L-Aminosäuren (N,O,S-TFA/n-Propyl-ester) in Abhängigkeit vom Phenylanteil in der stationären Phase (33).

Die zweite Variante war der Einfluß von Poly-(γ-methyl-siloxy-buttersäure-n-butylamid) als polarer Modifikator. Dieser kann entweder direkt ins Copolymer eingebaut oder nachträglich zur fertigen Phase hinzugemischt werden. Die Ergebnisse hierzu belegt Fig.15.

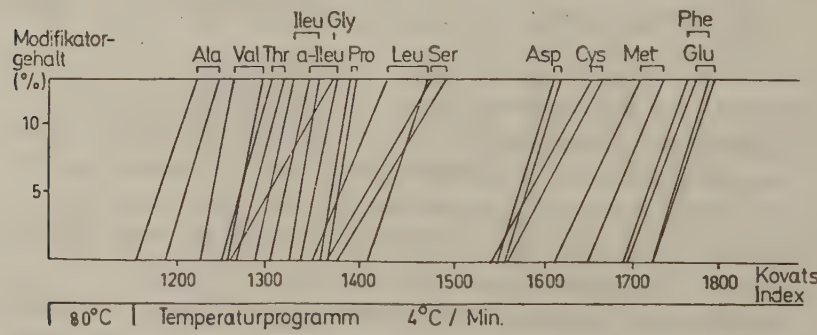


Fig.15: Verhalten der D,L-Aminosäuren (N,O,S-PFP/i-Propyl-ester) in Abhängigkeit vom Gehalt an Poly-(γ-methyl-siloxy-buttersäure- butylamid) (33).

Als nachteilig erweist sich allerdings bei dieser Methode eine größere Modifikatormenge. Eine Zunahme des achiralen Modifikators bewirkt einen leichten Rückgang der Trennfaktoren. Aus diesem Grund wird die Darstellung einer aus DCC- und CDI gekuppelten Mischphase durchgeführt. Der Vorteil dieser Methode ist klar. Die Korrektur der Polarität durch die Phase selbst führt in diesem Fall zu keinem Verlust der Trennleistung.

1.6. Darstellung einer Mischphase

Der erste Versuch wird mit den beiden Phasen aus Fig.13a und b durchgeführt. Als bestes Mischungsverhältnis ergibt sich hier Chirasil-Val 1:5 a/Chirasil-Val 1:5 b = 6/4. Das Chromatogramm dieser Mischphase zeigt Fig.16.

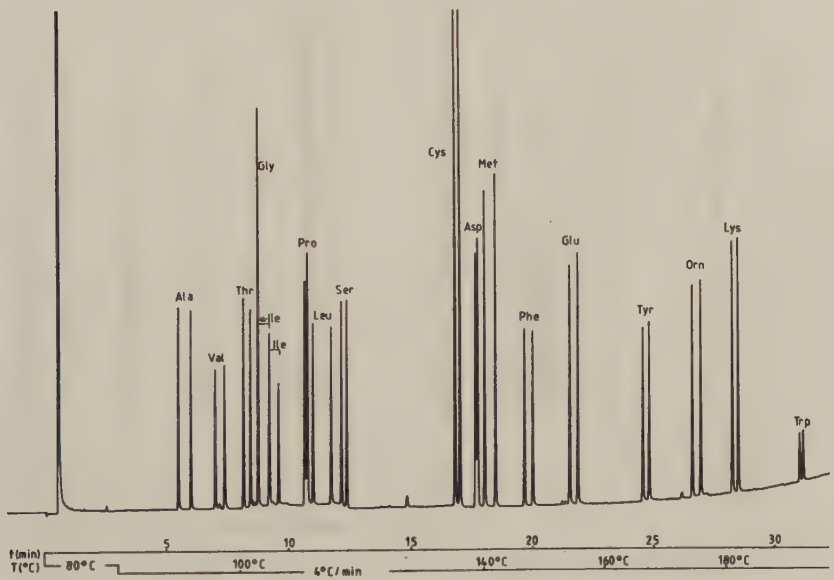


Fig.16: Enantiomerentrennung racemischer Aminosäuren
Derivate: N,O,S-PFP/n-Propylester
p_i = 0,4 kg/cm² H_2 (20 m Kapillare)
T = 80/3/4/200°C

Bei dieser Phase kommt es nur noch zur Überlappung von Gly und D- α-Ile. Um auch noch diese Peaks aufzutrennen, wäre ein Verhältnis von a/b = 6,5/4 oder a/b = 7/3 geeigneter gewesen. Diese Annahme konnte jedoch aus Mangel an Phase nicht überprüft werden.
Nachfolgende Versuchsreihen bestätigten jedoch die Richtigkeit des eingeschlagenen Weges. Es konnten jeweils Phasen hergestellt werden, deren Polarität für die Aminosäuretrennung als optimiert betrachtet werden kann. Der Kupplungsschritt muß zwar zweimal durchgeführt werden, dafür erhält man aber andererseits qualitativ bessere Phasen. In Fig.17 ist stellvertretend für diese Phasen ein Chromatogramm wiedergegeben.

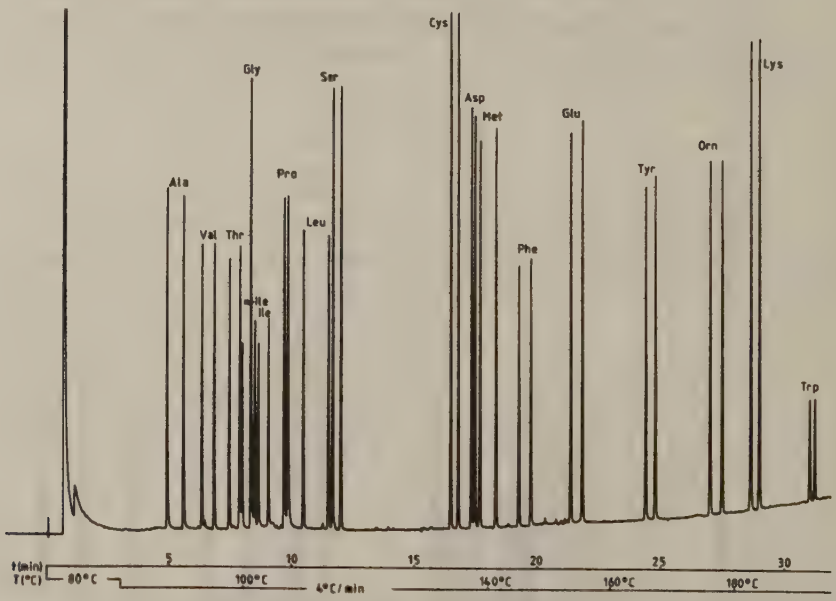


Fig.17: Enantiomerentrennung racemischer Aminosäuren
Derivate: N,O,S-PFP/n-Propylester
p_i = 0,4 kg/cm² H_2 (20 m Kapillare)
T = 80/3/4/200°C
Stationäre Phase: $\frac{\text{Chirasil-Val MM 1:7 a}}{\text{Chirasil-Val MM 1:7 b}} = \frac{18,54}{22,27}$

1.7. Reinigung der stationären Phase

Die Reinigung der stationären Phase ist unumgänglich, da sonst der Anteil an niedermolekularen Verbindungen zu groß ist. Diese niedermolekularen Anteile bewirken ein starkes Ansteigen der Basislinie mit zunehmender Temperatur. Folglich muß die Säule länger konditioniert werden, manchmal bis zu einer Woche. Ursprünglich erfolgte die Reinigung der stationären Phase durch Ausfällung und Filtration. Eine bessere Reinigung wird mittels Gelpermeationschromatographie erzielt (33). Daß dieser Reinigungsschritt effektiver ist, zeigt Fig.18 (33).

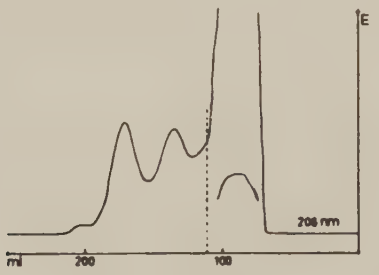


Fig.18: Gelchromatographie LH 20/n-Butanol eines durch Ausfällen gereinigten chiralen Polysiloxans.

Das Elutionsdiagramm verdeutlicht, daß in der Phase noch niedermolekulare Anteile vorhanden waren. Dieser Reinigungsschritt macht sich auch bei der Konditionierung der Kapillaren bemerkbar. Bereits nach zwei Stunden Ausheizen kann ein erstes Testchromatogramm durchgeführt werden, und nach 6-7 Stunden beobachtet man fast kein Ausbluten mehr. Der Einfluß der niedermolekularen Anteile auf das Bluten einer belegten Säule macht sich schon bei der Wahl des Lösungsmittels bemerkbar. Benutzt man zur statischen Belegung der Kapillaren eine Lösung der stationären Phase in Pentan, findet man deutlich schwächeres Bluten als bei einer Lösung in Methylenchlorid. Vermutlich bewirkt im Methylenchlorid vorhandene Salzsäure eine Zersetzung von Neben-

produkten.
Die Abspaltung der Schutzgruppe bei BOC-L-Val-t-butylamid wird gaschromatographisch verfolgt. Man stellt dabei fest, daß eine vollständige Abspaltung der BOC-Gruppe fast nie erreicht wird; in manchen Fällen liegen nach der Behandlung mit 1,2 N HCl/Eisessig noch bis zu 10% des geschützten Valinderivates vor. Bei der Konditionierung einer Kapillare, die neben der stationären Phase mit BOC-L-Val-t-butylamid belegt wird, würde die Schutzgruppe thermisch entfernt und die resultierenden freien Aminogruppen würden die Trennleistung erheblich beeinträchtigen. Eine nachträgliche Entfernung von BOC-L-Val-t-butylamid ist nur gelpermeationschromatographisch möglich.

2. Das "Serin-Problem"

In einigen Fällen erweist sich die Elution von Serin als äußerst problematisch. Ohne einen direkt ersichtlichen Grund beobachtet man,von Phase zu Phase unterschiedlich,das Vorhandensein oder Fehlen der beiden Peaks. Besonders häufig fehlen sie allerdings in Chirasil-Val AC-Phasen. Durch Einspritzen von Trichlormethylsilan oder Chlortrimethylsilan in die Kapillare bei 200°C wird die Elution von Serin verbessert. Dieser Desaktivierungsschritt hält allerdings nicht sehr lange an. Damit die Säulen längere Zeit benutzt werden können, wird eine andere Desaktivierungsmethode untersucht. Dabei wird von der Vermutung ausgegangen, daß die serinzerstörende Wirkung von in der Phase vorhandenen $-NH_2$-Gruppen verursacht wird. Diese Aminogruppen können durch Hydrierung der Nitrilgruppe mit H_2PtCl_6 als Hydrierkatalysator entstanden sein. Eine mögliche Umacylierung des Serinderivates kann das Fehlen des Serins in den Chromatogrammen verursachen. Um die Aminogruppen zu beseitigen, werden in die Kapillare 2 µl Tert.-Butylisocyanat splitlos bei 200°C eingespritzt. Dabei entsteht in der Säule das entsprechende Urethanderivat. Fig.19a zeigt das Chromato-

gramm einer Chirasil-Val AC-Phase, bei der nicht nur Serin fehlt, sondern auch Threonin und Cystein schlecht eluiert werden.

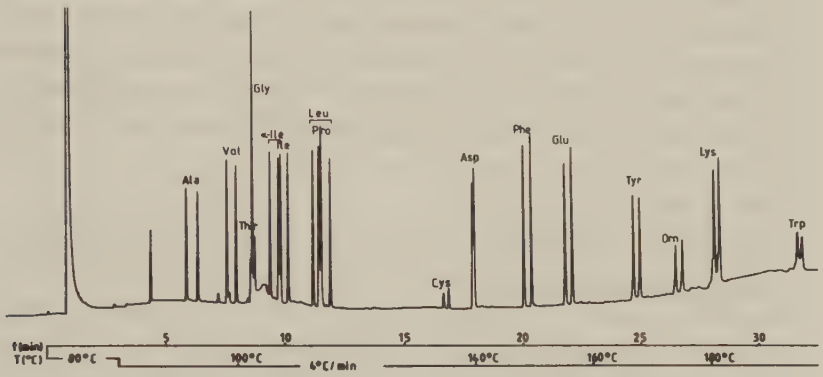


Fig.19a: Enantiomerentrennung racemischer Aminosäuren

Nach diesem Trenngang wird Tert.-Butylisocyanat in die Kapillare gespritzt. Nach ca. 45 Minuten Ausheizen ist die Basislinie wieder konstant. Ein erneuter Trenngang an derselben Säule ergibt das in Fig.19b dargestellte Chromatogramm.

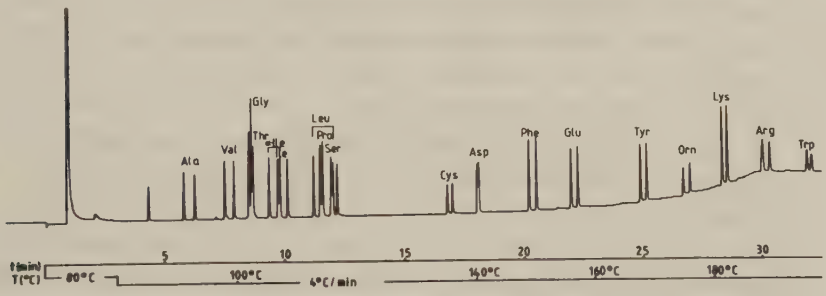


Fig.19b: Enantiomerentrennung racemischer Aminosäuren

Zu Fig.19a und b: Derivate: N,O,S-PFP/n-Propylester

p_i = 0,4 kg/cm² H_2 (20 m Kapillare)

T = 80/3/4/200°C

Stationäre Phase: Chirasil-Val AC 1:8,9 b

Serin und Arginin werden nun aufgetrennt, Threonin und Cystein erscheinen erheblich verbessert. Leider geht dieser Desaktivierungseffekt nach ca. 6 Stunden (Säule bei 200°C) langsam wieder zurück. Jedoch kann er durch erneutes Einspritzen von Tert.-Butylisocyanat wieder hergestellt werden. Eine Konditionierung der Kapillare in einer Tert.-Butylisocyanat-Atmosphäre bietet sich hier an. Eine Säule, die so konditioniert wird, müßte über einen längeren Zeitraum zu gebrauchen sein.

Der oben angesprochene mögliche Effekt (das Vorhandensein von Aminogruppen) kann natürlich nicht für Chirasil-Val MM-Phasen gelten; dennoch beobachtet man in einigen Fällen das Fehlen von Serin. Die Phasen können durch Behandlung mit Tert.-Butylisocyanat nicht wesentlich verbessert werden. Dieses läßt den Schluß zu, daß entweder die Annahme der Aminogruppen bei Chirasil-Val AC-Phasen falsch oder aber bei Chirasil-Val MM-Phasen noch eine weitere Ursache verantwortlich ist. Durch Vergleich aller Spektren serineluierender Chirasil-Val MM-Phasen und deren Vorstufen mit den entsprechenden Spektren serinzerstörender MM-Phasen sollte ein möglicher Zusammenhang gefunden werden. Tatsächlich findet man eine Korrelierung zwischen den ^{1}H-NMR-Spektren der MM-Copolymere und der Eluierung von Serin. In allen Fällen, in denen Serin zerstört wird, kann eine unzureichende Verseifung des Methylesters nachgewiesen werden. Daß Methylestergruppen störend wirken, wird durch folgendes Experiment belegt. Durch eine Kapillare,die Serin mäßig eluierte, wird Diazomethan geleitet, um mögliche vorhandene Carboxygruppen zu beseitigen. In der anschließenden Aminosäuretrennung wird dann kein Serin mehr nachgewiesen.

Um einen besseren Überblick zu erhalten, sollen die Faktoren, die die Elution von Serin verschlechtern oder begünstigen, nochmals aufgelistet werden.

Die Elution von Serin wird verschlechtert durch:

- Ausbluten der Phase (bei manchen Phasen wird mit dem Rückgang der Trennfaktoren eine Verschlechterung der Intensität der Serin-Peaks gefunden),
- Durchleiten von Diazomethan durch die Kapillare,
- Desaktivierung der Kapillare mit Carbowax sowie durch
- Verwendung von Weichglas-Kapillaren.

Die Elution von Serin wird verbessert durch:

- HCl-Behandlung, sowohl vor als auch nach der Belegung mit stationärer Phase,
- Einspritzen von Trichlormethylsilan, Chlortrimethylsilan oder eines Isocyanats nach der Belegung,
- DCC-Kupplung gegenüber CDI-Kupplung sowie
- Verwendung von Chirasil-Val MM- gegenüber Chirasil-Val AC-Phasen.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß nicht "ein" spezieller Grund für das Fehlen des Serins verantwortlich ist. Vielmehr wird die Elution durch mehrere Effekte begünstigt oder verschlechtert. Für eine gute Elution scheint die Beseitigung aller möglicher Basen (wie Imidazol, N-Methylmorpholin usw.) besonders wichtig zu sein.

3. Erhöhung der thermischen Stabilität durch Quervernetzung von Chirasil-Val

In Anlehnung an die Arbeiten von Grob und Grob (68) werden Quervernetzungsversuche mit Dicumylperoxid (DCUP) durchgeführt. Ziel dieser Versuche war sowohl die Darstellung immobilisierter Phasen als auch der Wunsch, Chirasil-Val für die Enantiomerentrennung bei sehr hohen Temperaturen zugänglich zu machen.
Zwei normal desaktivierte Duran 50-Glaskapillaren (nach dynamischer Belegung mit kolloidalem SiO_2 in Aceton, zwei Stunden Ausheizen bei 280°C) werden mit einer Lösung aus

Chirasil-Val und DCUP statisch belegt. Dabei handelt es sich um das Gemisch aus 2 ml einer 0,3 prozentigen Lösung von Chirasil-Val MM in Pentan und 6 µl einer 2 prozentigen Lösung von DCUP in Toluol. Das heißt, daß bei vollständigem Umsatz eine Quervernetzung von 2% erfolgt wäre. Schon bei der Konditionierung zeigt sich sehr früh eine deutliche Verbesserung im Temperaturverhalten. Während die unvernetzte Chirasil-Val-Phase normalerweise mehrere Tage ausgeheizt werden muß, läßt sich im Fall der Belegung mit DCUP bereits nach einem halben Tag bis 200°C kein Bluten mehr beobachten. Nach Erhalt des ersten Testchromatogramms wird die Kapillare drei Tage lang bei 250°C ausgeheizt. Ein Vergleich zeigt, daß sich die Phase gegenüber dem ersten Testchromatogramm nur unwesentlich verändert hat. Durch Ausheizen der Kapillare, 12 Stunden bei 270°C, wird dann allerdings eine wesentliche Verschlechterung festgestellt. Diese ist insbesondere auf Tröpfchenbildung der Phase in der Kapillare zurückzuführen.

Bei der zweiten Kapillare wird das Verhalten bei höheren Temperaturen genauer beobachtet. Die Kapillare wird analog der ersten belegt und zwei Tage bei 200°C konditioniert. Anschließend werden die α - und k'-Werte für D,L-Alanin bei 90°C bestimmt. Danach wird die Kapillare 9 Tage bei 250°C ausgeheizt, wobei zwischendurch mehrmals die α- und k'-Werte erneut vermessen werden. Die Ergebnisse sind sowohl in Tabelle 2 als auch in Fig.20a und b festgehalten.

Tabelle 2: α - und k'-Werte für D,L-Alanin(PFP/n-Propylester) gemessen bei 90°C, in Abhängigkeit von der Konditionierungsdauer bei 250°C

	Zeit/Temp.	α	k'
Start:	48 h/200°C	1,181	6,92
	18 h/250°C	1,171	6,54
	42 h/250°C	1,170	6,45
	66 h/250°C	1,149	5,72
	138 h/250°C	1,118	5,01
	162 h/250°C	1,109	4,49
	186 h/250°C	1,104	4,13
	210 h/250°C	1,091	3,94

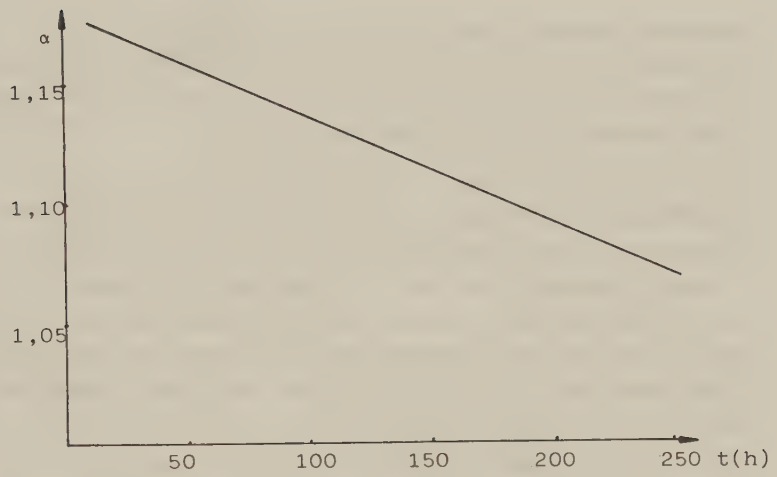


Fig.20a: Rückgang des α-Wertes einer 2% quervernetzten Chirasil-Val-Phase

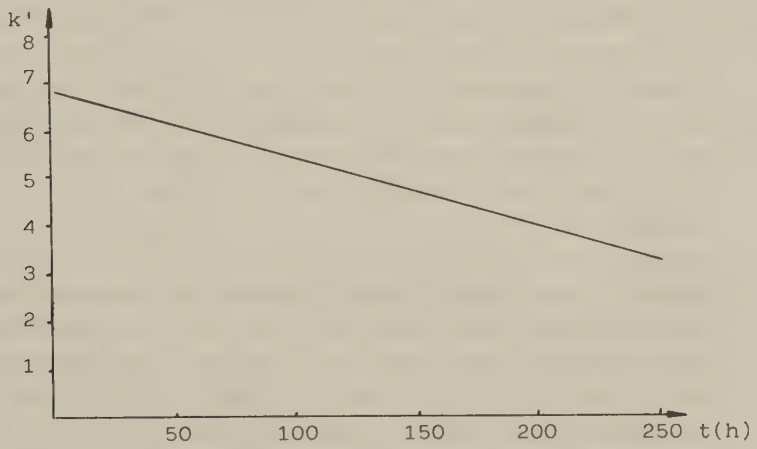


Fig.20b: Rückgang des k'-Wertes einer 2% quervernetzten Chirasil-Val-Phase

Während der α-Wert auf ca. 50% seines ursprünglichen Wertes zurückgeht, beobachtet man für k' einen etwas schwächeren Rückgang. Der dennoch fast parallele Rückgang von α- und k'-Werten legt zunächst die Vermutung nahe, daß es sich bei höheren Temperaturen nicht um eine Racemisierung

handelt, sondern daß es zu einer Abspaltung der optisch aktiven Zentren bei erhöhter Temperatur kommt. Geeignet hierfür wäre die Si-C Bindung, besonders wenn verzweigte Reste am Silizium gebunden sind.

Während die Abspaltung der optisch aktiven Zentren vom Siloxan noch spekulativ ist, läßt sich eine mögliche Racemisierung leicht überprüfen. Eine mit Chirasil-Val belegte Glaskapillare wird 15 Minuten mit Wasserstoff gespült. Nachdem beidseitig ein Vakuum angelegt ist, werden die beiden Enden zugeschmolzen und die Kapillare drei Tage lang bei 250°C erhitzt. Nach erfolgter Hydrolyse und Derivatisierung des abgespaltenen Valins erhält man beim Racemattest 48,3% D-Valin bzw. 3,4% e.e.
Dagegen findet man bei der unter Wasserstoffspülung drei Wochen lang bei 250°C ausgeheizten Kapillare lediglich 12,9% D-Valin bzw. 74,2% e.e. Der Rückgang des α-Wertes auf 50% läßt sich deshalb sowohl auf Racemisierung des Valinrestes als auch auf Verlust chiraler Zentren zurückführen. Dieses geschieht entweder durch Abspaltung der chiralen Gruppe vom Silikon oder aber durch Veränderung des Valinrestes unter Aufhebung der Chiralität, so daß dieser Rest nach der Hydrolyse nicht mehr als Valin erkannt wird.
Während in einer offenen Kapillare Racemisierung begünstigende Basen eluiert werden, ist das in einer geschlossenen Kapillare nicht möglich. Um diese Basen nachzuweisen, wird eine drei Tage bei 250°C erhitzte Kapillare (mit verschlossenen Enden) im GC/MS mit einer SE-52 Kapillare gekoppelt (siehe Fig.21).
Unter Heliumspülung (A) wird die Chirasil-Val-Kapillare von 50°C bis 250°C im GC erhitzt; eluierende Verbindungen werden außerhalb des GC in einem Dewar mit flüssigem Stickstoff in den ersten 40 cm einer SE-52 Quarzkapillare einkondensiert. Nach Abkühlen des Gaschromatographen wird die Quarzkapillare vollständig eingebaut und die Probe unter Trägergasspülung (B) durch GC/MS-Messung bestimmt.

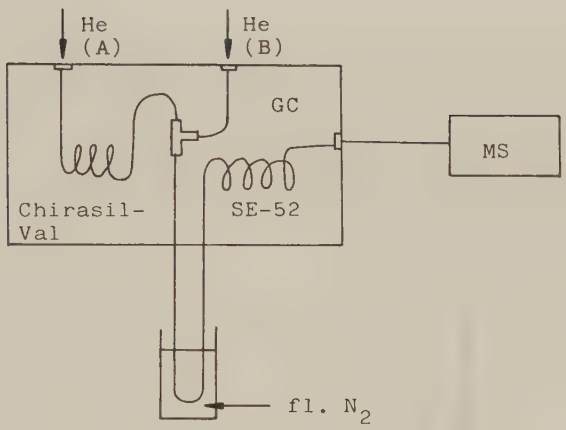


Fig.21: Kopplung einer racemisierten Chirasil-Val-Kapillare mit einer SE-52 Quarzkapillare im GC/MS

Die Zuordnung einzelner Verbindungen gestaltet sich außerordentlich schwierig, da kontinuierlich eluierende Silikonmoleküle das resultierende Chromatogramm überlagern. Dennoch findet man in einigen Fällen Hinweise auf Verbindungen mit freien Aminogruppen. Eine eindeutige Aussage über deren Struktur kann allerdings nicht gemacht werden.

4. Vorteil persilylierter Glaskapillaren

Die Benutzung persilylierter Glaskapillaren für die Aminosäuretrennung mit Chirasil-Val erweist sich als äußerst vorteilhaft. Die von Nicholson (69) in Anlehnung an Grob und Grob (70) durchgeführten Versuche zeigen, daß mit persilylierten Kapillaren eine problemlose Bestimmung von Arginin erfolgen kann. Dies gelang früher nur mit Kapillaren, die zuvor mit HCl desaktiviert wurden. Selbst dann war die Bestimmung von Arginin an solchen Kapillaren zeitlich begrenzt. Durch die neue Desaktivierung, speziell durch Verwendung von Tetramethyldiphenyldisilazan als Persilylierungsreagenz, läßt sich dieses nun umgehen. An einer mit Chirasil-Val belegten persilylierten Glaskapillare (Fig.22) wird ein Grob-Testgemisch getrennt. Die Trennung

dieses Testgemisches stellt ein gutes Kriterium für die Güte von Säule und Phase dar. Man erkennt, daß die Kapillare aufgrund der Peakform auch für achirale Trennprobleme herangezogen werden kann. Die Ergebnisse lassen sich mit denen vergleichen, die man unter Verwendung von Quarzkapillaren erhält.

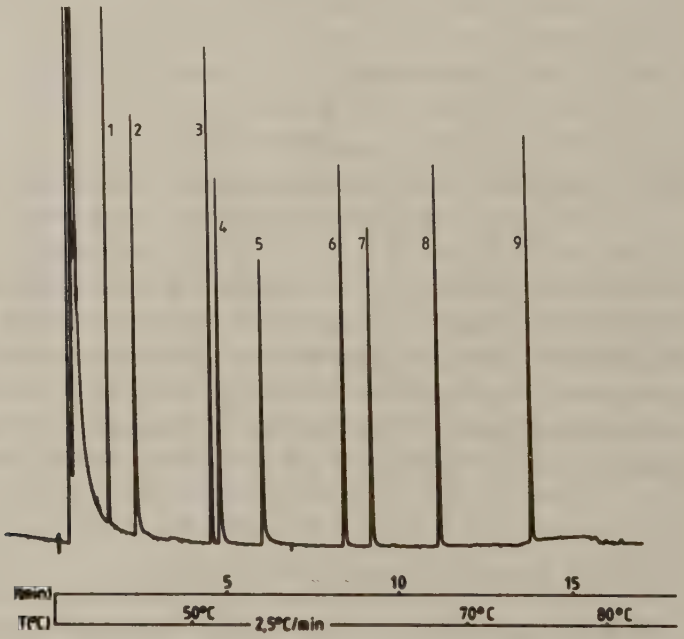


Fig.22: Trennung eines Grob-Testgemisches II (bestehend aus 1 = n-Dekan, 2 = 1,3-Butandiol, 3 = n-Dodekan, 4 = n-Oktanol, 5 = 2,6-Dimethylanilin, 6 = Dekansäuremethylester, 7 = 2,6-Dimethylphenol, 8 = Undekansäuremethylester, 9 = Dodekansäuremethylester) an einer persilylierten Chirasil-Val-Kapillare
p_i= 0,4 kg/cm² H_2 (20 m Kapillare)
T = 40/0/2,5/195°C

5. Derivatisierung der Aminosäuren

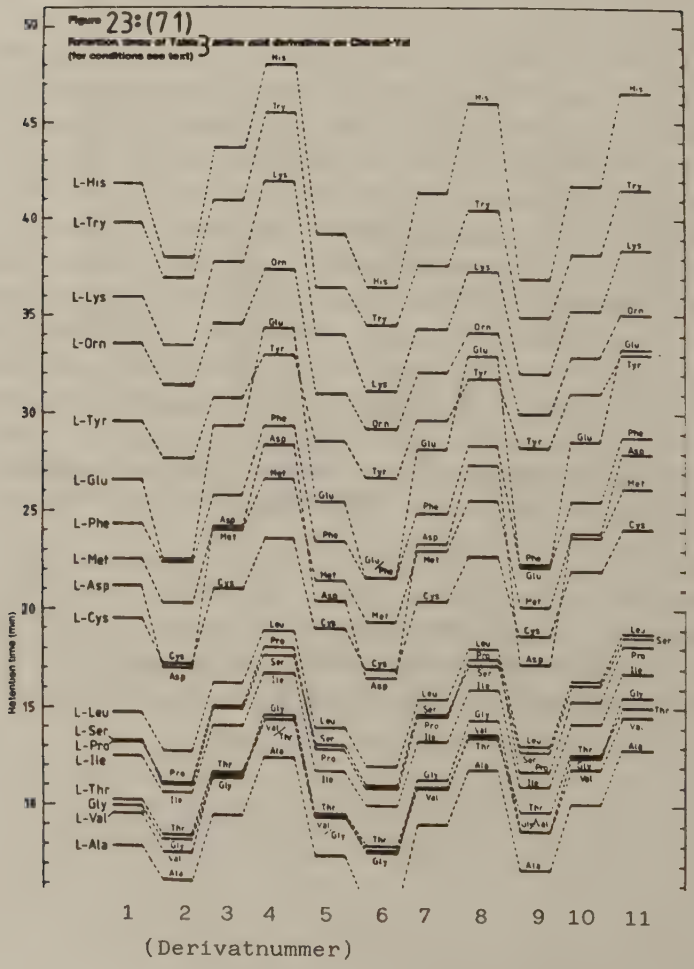
Wie bereits in der Einleitung erwähnt, müssen die Aminosäuren für die gaschromatographische Enantiomerentrennung derivatisiert werden. Dabei ist zu beachten, daß für die diastereomeren Assoziationskomplexe neben der Flüchtigkeit unterschiedliche Stabilität gewährleistet ist. Diese unterschiedliche Stabilität resultiert primär aus der unterschiedlichen Anordnung vorhandener Wasserstoffbrückenbindungen. So zeigt sich, daß Derivate, welche die Ausbildung von Wasserstoffbrücken behindern oder ausschließen, für die Enantiomerentrennung nicht in Frage kommen. Perfluoracylierte Aminosäureester, die gewöhnlich für die gaschromatographische Analyse an achiralen Phasen benutzt werden, erweisen sich für die Enantiomerentrennung an Chirasil-Val ebenfalls als geeignet (30,31). Insbesondere die Kombinationen N,O,S-PFP/n-Propyl, N,O,S-PFP/iso-Propyl und N,O,S-TFA/n-Propyl benutzt man heute für die routinemäßige Enantiomerenbestimmung. Man findet für iso-Propylester gegenüber n-Propylester in der Regel höhere Trennfaktoren verbunden mit kleineren Retentionszeiten. Während die Reinheit käuflichen PFP-Anhydrids meist unzulänglich ist (meist Verunreinigung mit HFBA), besitzen die PFP- jedoch gegenüber den TFA-Derivaten eine größere Stabilität. In diesem Zusammenhang sei erwähnt, daß die Optimierung der Chirasil-Val–Phasen (Mischphasenbildung) für die N,O,S-PFP/n-Propylester erfolgte.

Zu gleichen Ergebnissen kommt die Arbeit von Liardon und Ledermann (71). Diese bestimmten ebenfalls die Retentionszeiten der Aminosäuren in Abhängigkeit vom Derivat. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 und Fig.23 festgehalten.

Table 3 (71)

List of the prepared amino acid derivatives

1	N(O,S)-Trifluoroacetyl n-propyl ester	(TFA-n-Pro)
2	N(O,S)-Trifluoroacetyl isopropyl ester	(TFA-i-Pro)
3	N(O,S)-Trifluoroacetyl isobutyl ester	(TFA-i-But)
4	N(O,S)-Trifluoroacetyl isoamyl ester	(TFA-i-Am)
5	N(O,S)-Pentafluoropropionyl n-propyl ester	(PFP-n-Pro)
6	N(O,S)-Pentafluoropropionyl isopropyl ester	(PFP-i-Pro)
7	N(O,S)-Pentafluoropropionyl isobutyl ester	(PFP-i-But)
8	N(O,S)-Pentafluoropropionyl isoamyl ester	(PFP-i-Am)
9	N(O,S)-Heptafluorobutyryl isopropyl ester	(HFB-i-Pro)
10	N(O,S)-Heptafluorobutyryl isobutyl ester	(HFB-i-But)
11	N(O,S)-Heptafluorobutyryl isoamyl ester	(HFB-i-Am)



6. Analytik der Polysiloxane

Polysiloxane lassen sich aufgrund der Polymerstruktur nur eingeschränkt analysieren. Zur Charakterisierung der Copolymere und Phasen werden im wesentlichen die IR- und ^{1}H-NMR-Spektren herangezogen. Die Reaktionskontrolle bei der Verseifung von Estergruppen mittels IR kann, wie bereits erwähnt wurde, nicht eindeutig ausgewertet werden. Fig.24 a-c zeigt die IR-Spektren von Copolymer MM (Fig.24a), Copolymer VE (Fig.24b) und Copolymer MN (Fig.24c).

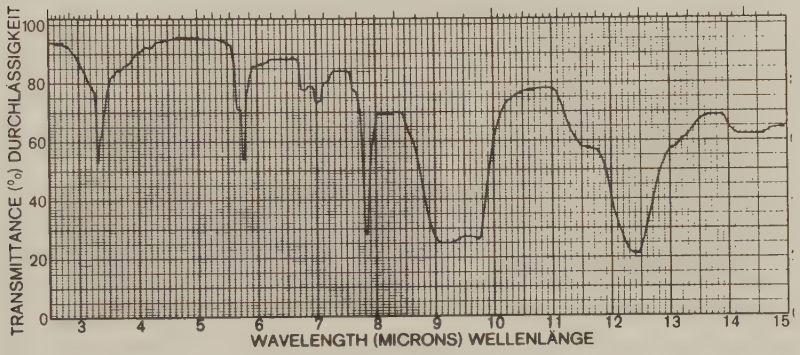


Fig.24a: IR-Spektrum vom Copolymer MM

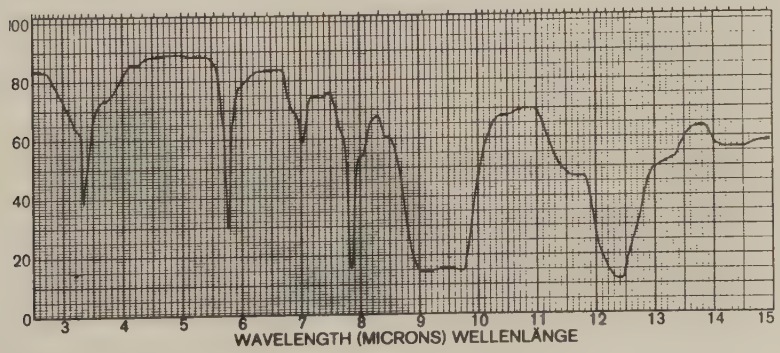


Fig.24b: IR-Spektrum vom Copolymer VE

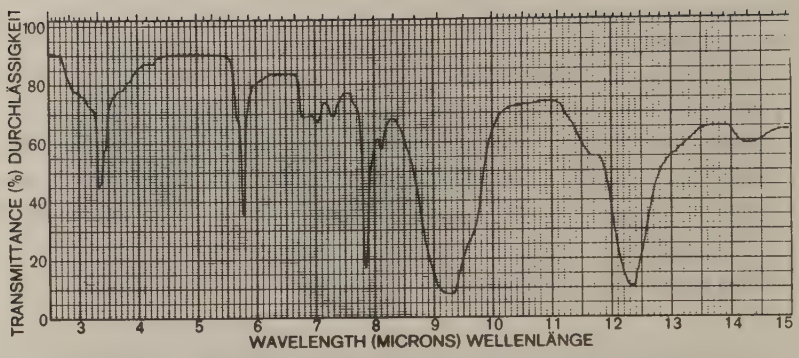


Fig.24c: IR-Spektrum vom Copolymer MN

In Fig.24a erkennt man leicht die unvollständige Verseifung des Methylesters. Zum Vergleich bietet sich die Carbonylbande der freien Säure bei 1706 cm^{-1} in Fig.24c an. Hier existiert keine Esterbande, da die eingesetzte Poly-(ß-methylsiloxy-isobuttersäure) durch Verseifung von Nitrilgruppen erhalten wurde. Dafür unterscheidet sich Copolymer MN von den anderen in seiner Silikonstruktur. Die Doppelbande zwischen 1000 und 1100 cm^{-1} (d.h. es liegen mehr als 10 Si-O-Si Einheiten als Kette vor) zeigt am deutlichsten das intakte Silikongerüst (53,72,73). Obwohl das aus Copolymer MN dargestellte Chirasil-Val für die Aminosäuretrennung ähnliche Ergebnisse liefert wie andere Phasen (vgl. Fig.7a und b), scheint es "weniger" polymer als diese zu sein.

Für die Copolymere sind im wesentlichen folgende Banden charakteristisch:

3000 cm^{-1}	C-H
1706 cm^{-1}	C=O
1265 cm^{-1}	$Si-CH_3$
1000 - 1100 cm^{-1}	Si-O-Si (vgl.Text)

Von besonderem Interesse ist die Kenntnis des Verhältnisses von Carboxyalkylmethylsiloxan-Gruppen zu Dimethylsiloxyein-

heiten (y:x). Die integrierten ^{1}H-NMR-Spektren geben hierüber Auskunft. Fig.25a zeigt das ^{1}H-NMR-Spektrum von Poly-(γ -methylsiloxy-buttersäure)-Copolymer AC 1:7, Fig.25b das von Poly-(β -methylsiloxy-isobuttersäure)-Copolymer MM 1:7.

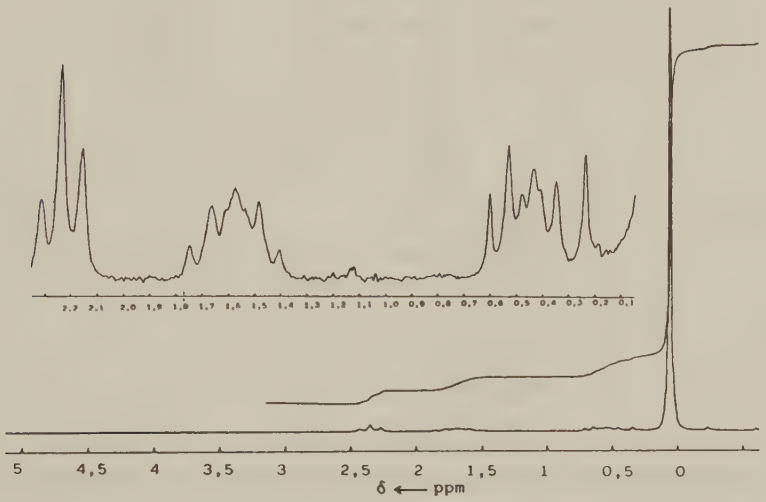


Fig.25a: ^{1}H-NMR-Spektrum von Poly-(γ -methylsiloxy-buttersäure)-Copolymer AC 1:7

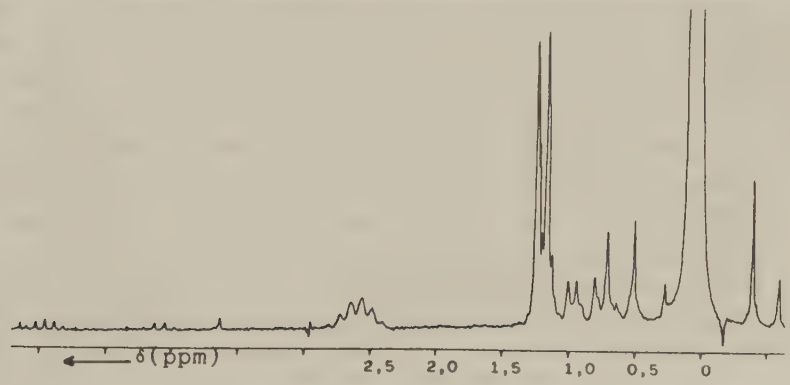


Fig.25b: ^{1}H-NMR-Spektrum von Poly-(β-methylsiloxy-isobuttersäure)-Copolymer MM 1:7

Beim Copolymer aus Fig.25a finden sich folgende Signale:

	δ (ppm)		zugeordnetes Proton
1.	0,046	(Singulett)	H_3C-Si
2.	0,534	(Triplett)	$\overline{Si}$-CH_2-
3.	1,679	(Quintett)	-CH_2-$\overline{CH_2}$-CH_2-Si
4.	2,259	(Triplett)	-CH_2-$\overline{CO}$
5.	9,2	(breites Singulett)	-$\overline{COO}\underline{H}$

Um y:x zu berechnen, wird auf 1:x normiert. Für x ergibt sich dann:

$$x = \frac{[I(1) - 3H]}{6H}, \text{ wobei } H = \frac{[I(3) + I(4)]}{4} \text{ ist.}$$

(I= der Integrationswert für das betreffende Signal)

Beim Copolymer aus Fig.25b erfolgt die Bestimmung in analoger Weise mit dem Integrationswert der α-Methylgruppe bei δ = 1,2 ppm (Dublett).

Jedoch muß an dieser Stelle nochmals betont werden, daß die ^{1}H-NMR-Spektren keinerlei Auskunft über die Struktur des Silikons geben. Das Spektrum eines Polysiloxan-Copolymers unterscheidet sich nicht wesentlich vom Gemisch der entsprechenden zwei Siloxane. Es kann lediglich das Vorhandensein der funktionellen Gruppen nachgewiesen werden; eine Aussage über die Äquilibrierung bzw. ob und wie diese stattgefunden hat, darf nicht gemacht werden. Der wesentliche Vorteil der ^{1}H-NMR-Spektren liegt in der Kontrolle der Verseifung des Methylesters. Fig.26 zeigt das ^{1}H-NMR-Spektrum eines Copolymers MM, bei dem die Verseifung unvollständig verlaufen ist.

Nach Knüpfung der Peptidbindung interessiert vor allem die Qualität der stationären Phase. Deshalb wird in der Regel zunächst eine Kapillare belegt und eine Enantiomerentrennung durchgeführt. Weitere Hinweise kann man dem IR-Spektrum entnehmen.

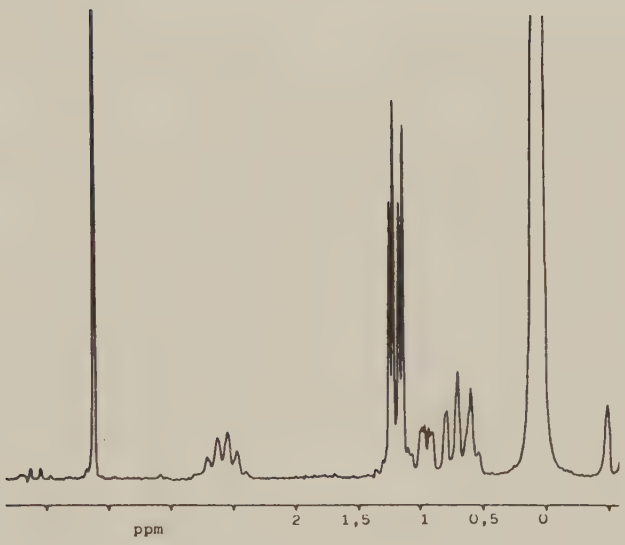


Fig.26: ^{1}H-NMR-Spektrum eines Copolymers MM mit Carboxy- und Methylestergruppen

Die Fig.27 gibt das IR-Spektrum von Chirasil-Val MM 1:7 a wieder (vgl. mit Fig.8a = IR-Spektrum von Chirasil-Val VE 1:5 b und Fig.8b = IR-Spektrum von Chirasil-Val MN 1:5 b).

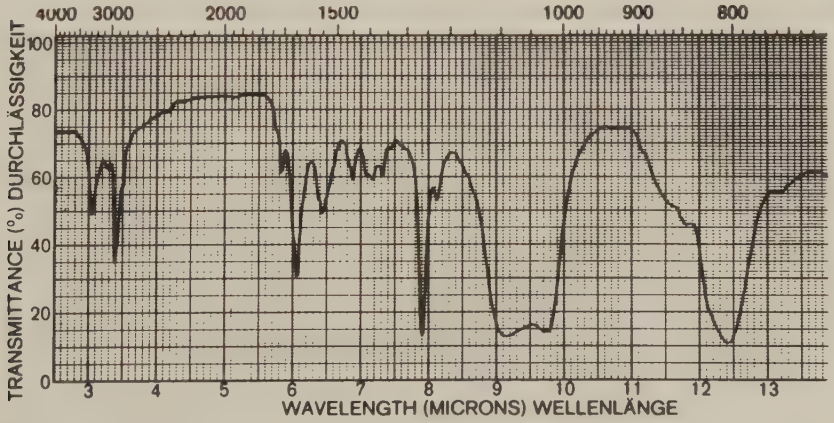


Fig.27: IR-Spektrum von Chirasil-Val MM 1:7 a.

Den erfolgten Kupplungsschritt erkennt man am Auftreten der N-H Valenzschwingung bei 3205 cm^{-1} und der Amidbanden

bei 1645 cm^{-1} und 1640 cm^{-1}.

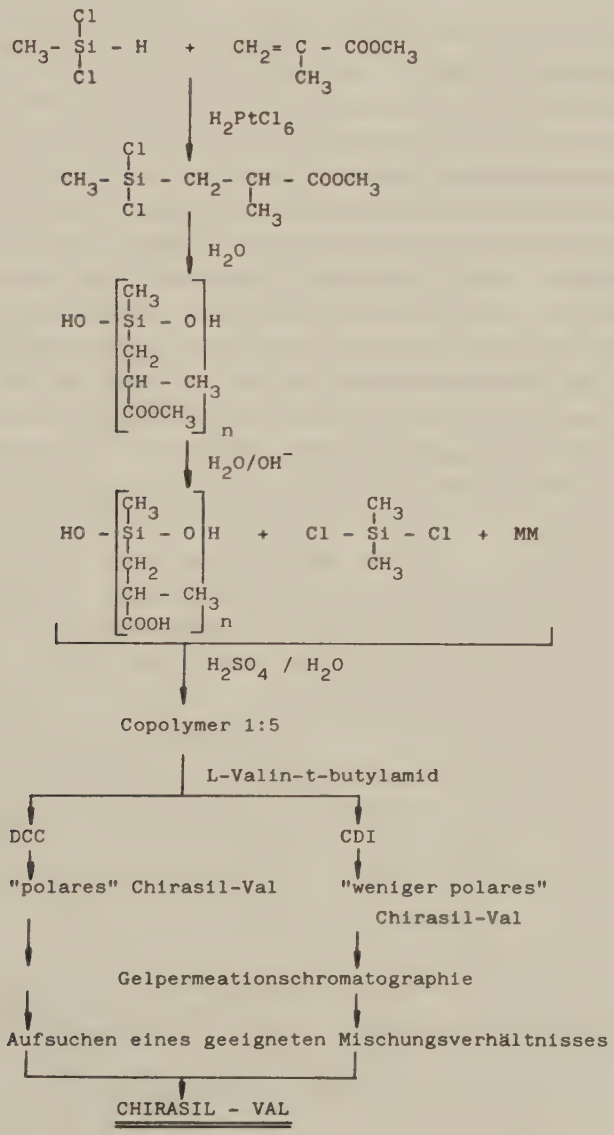
Der unterschiedliche Kupplungsgrad (CDI-Kupplungen verlaufen vollständiger als DCC-Kupplungen) kann qualitativ durch Bestimmung des Drehwertes und quantitativ durch die Methode des "Enantiomer-Labellings" erfaßt werden. Die Elementaranalysen erweisen sich für die Charakterisierung der stationären Phasen als unzulänglich. Die Bestimmung der funktionellen Gruppen über den Stickstoffwert sind mit zu großem Fehler behaftet (der Stickstoffanteil beträgt nur ca. 2%). Dasselbe gilt in etwa für die NMR-Spektren. Sowohl ^{1}H- als auch ^{13}C-NMR-Spektren sind wegen der Überlagerung vieler Signale für die Beschreibung der stationären Phase nicht geeignet.

Die Reinigung der stationären Phase durch Gelpermeationschromatographie erweist sich nicht nur für die Qualität der Phase, sondern auch für die Analytik des Polysiloxans als besonders nützlich. Bei dem verwendeten Gel handelt es sich um Sephadex LH 20, einem Gel mit einer Ausschlußgrenze von 4000. Für die eingesetzten Copolymere sollte eine mittlere Molekularmasse von 5000 realisiert werden. Durch Kupplung mit L-Val-t-butylamid erhöht sich diese für die stationäre Phase nochmals um den Wert 1200. Für die chromatographische Reinigung konnte man somit erwarten, die stationäre Phase in der ersten Fraktion wiederzufinden. Alle Versuche zeigen aber, daß in der ersten Fraktion höchstens 50% der eingesetzten Phase vorliegen. Der "Rest" verteilt sich kontinuierlich auf die anderen Fraktionen. Eine Überlastung der Säule scheidet aus, da das gleiche Elutionsverhalten auch bei äußerst kleinen Probemengen beobachtet wird. Erst durch die Strukturaufklärung der Copolymere für die Chirasil-Val-Synthese ließ sich dieser Sachverhalt klären.

7. Optimierter Syntheseweg für die Chirasil-Val-Darstellung

Für die Synthese von Chirasil-Val bieten sich mehrere Wege an. Um die Enantiomerentrennung von Aminosäuren im Sinne der

Problemstellung zu optimieren, läßt sich folgender Synthesegang formulieren:



Durch Mischen der Phasen können Polaritätsunterschiede korrigiert werden. Deshalb bleibt die Elution von Aminosäuren mit SH- und OH-Funktion ausschlaggebendes Kriterium für den Syntheseweg. Man beginnt somit die Hydrosilylierung mit Dichlormethylsilan und Methacrylsäuremethylester. Das bedingt zwar eine erschwerte Verseifung des Methylesters gegenüber der Nitrilgruppe, dafür läßt sich dieser Schritt NMR-spektroskopisch auf Vollständigkeit überprüfen. Der Äquilibrierung nach Schnurrbusch wird der Vorzug gegeben, da sie schneller und genauer durchführbar ist. Der Verdacht, daß Phasen, deren Copolymere nach dieser Methode äquilibriert worden sind,Aminosäuren mit SH- oder OH-Funktion zerstören, erweist sich als unberechtigt. Der Kupplungsschritt muß wegen der Polaritätskorrektur zweimal durchgeführt werden; dafür erhält man aber Phasen, deren Polarität es gestattet, alle natürlich vorkommenden Aminosäuren in einem einzigen Analysengang zu trennen.

II) Darstellung von Modellpolymeren und -phasen zur Strukturaufklärung von Chirasil-Val

1. Einleitung und Problemstellung

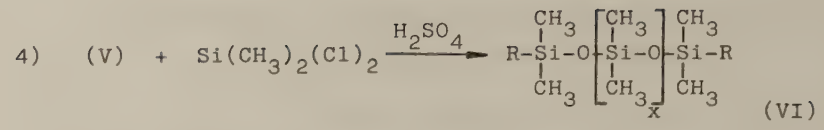
Obwohl gezeigt werden konnte, daß die Darstellung von Chirasil-Val für die Aminosäuretrennung reproduzierbar ist, blieb eine Reihe von Fragen unbeantwortet. Alle diese Fragen ergaben sich aus der ungeklärten Struktur der eingesetzten Copolymere. So erwies sich der Kupplungsschritt der Chirasil-Val-Synthese für ein definiertes Copolymer als absolut reproduzierbar. Unterschiedliche Polaritäten haben ihren Ursprung vielmehr in der Verwendung unterschiedlicher Copolymere. Wenngleich Chirasil-Val MN in Bezug auf seine Trennleistung und Temperaturstabilität mit den anderen Phasen gleichgesetzt werden kann (vgl. Fig.8b), deutet das IR-Spektrum des verwendeten Copolymers auf eine "weniger" polymere Struktur hin als dies bei den anderen Copolymeren der Fall ist (Interpretation der Doppelbande zwischen 1000-1100 cm^{-1}). Zudem waren die Molekulargewichtsbetrachtungen und Ergebnisse bei der Gelpermeationschromatographie nicht in Übereinstimmung zu bringen - eine Tatsache, die ebenfalls durch die Struktur des Polysiloxans bedingt ist.

Die Lösung dieser Fragen sollte durch Übertragung der Probleme auf kleine, analytisch kontrollierbare Polymere erfolgen. Diesbezüglich kam es zu folgender Syntheseplannung:

1) $(H_3C)_2SiH\text{-}Cl$ (I) + $H_2C{=}CH\text{-}CH_2\text{-}CN$ (II) $\xrightarrow{H_2PtCl_6}$ $Cl\text{-}Si(CH_3)_2\text{-}(CH_2)_3\text{-}CN$ (III)

2) (III) $\xrightarrow[-\ HCl]{+\ H_2O}$ $NC\text{-}(CH_2)_3\text{-}Si(CH_3)_2\text{-}O\text{-}Si(CH_3)_2\text{-}(CH_2)_3\text{-}CN$ (IV)

3) (IV) $\xrightarrow{H_2O/OH^-}$ $HOOC\text{-}(CH_2)_3\text{-}Si(CH_3)_2\text{-}O\text{-}Si(CH_3)_2\text{-}(CH_2)_3\text{-}COOH$ (V)



mit R = $-(CH_2)_3-COOH$ und x = 5,10,....

Die Reaktionen 1)-4) sind im Prinzip mit den ersten Reaktionen der Chirasil-Val-Synthese vergleichbar. Durch Hydrosilylierung von Chlordimethylsilan (I) und Allylcyanid (II) erhält man das monofunktionelle Chlordimethylsilylbutyronitril (III), das nur bis zum Dimer (IV) hydrolysiert werden kann. Das entstandene α,ω -Dibutyronitril-tetramethyldisiloxan (IV) wird durch Verseifen der Nitrilgruppen in α,ω -Dibuttersäure-tetramethyldisiloxan (V) überführt. Durch Äquilibrierung mit Dichlordimethylsilan nach Schurrbusch können so Copolymere (VI) dargestellt werden, die nach erfolgter Derivatisierung mit Diazomethan als Methylester gaschromatographisch bestimmt werden können. Diese Copolymere sollten nach Kupplung der Carboxygruppe mit L-Val-t-butylamid als stationäre Phasen getestet werden. Die Belegung der Kapillare müßte eventuell mit Dicumylperoxid erfolgen, um die Flüchtigkeit der Phase durch Quervernetzung herabzusetzen.

Die Vorteile eines solchen Vorgehens sind leicht einzusehen. Da es sich zu Beginn der Synthese nur um dimere Produkte handelt, können Reinigungsschritte effektiver durchgeführt werden. So kann α,ω -Dibutyronitril-tetramethyldisiloxan destillativ gereinigt und gaschromatographisch überprüft werden. Die Verseifung des Nitrils zur Säure wird entsprechend auf Vollständigkeit kontrolliert. Durch geeignete Wahl der Konzentration an Dichlordimethylsilan werden Polymere dargestellt, deren Molekulargewichtsverteilung gaschromatographisch ermittelt werden kann. Die Kupplung der Carboxygruppen müßte wegen deren Äquivalenz vollständig durchführbar sein. Von besonderem Interesse aber ist der Vergleich der einzelnen Schritte mit den entsprechenden der

Chirasil-Val-Synthese. Es können eventuell Nebenreaktionen nachgewiesen werden, die bei der Chirasil-Val-Darstellung aufgrund der großen Molekülstruktur nicht nachweisbar sind.

Die oben beschriebene Syntheseplanung setzt zwei Punkte voraus, die im einzelnen näher erläutert werden müssen. Der erste Punkt besagt, daß bei der Darstellung der Copolymere mit einer bestimmten Molekulargewichtsverteilung zu rechnen ist. Zum besseren Verständnis der Äquilibrierung muß deshalb auf die Theorie der Molekulargewichtsverteilungen in linear/cyclischen Polymersystemen von Jacobson und Stockmayer (62) eingegangen werden. Der zweite Punkt setzt voraus, daß eine nach dieser Theorie erhaltene homologe Siloxanreihe gaschromatographisch in die einzelnen Komponenten trennbar ist.

2. Theorie von Jacobson und Stockmayer (62)

Die Theorie bezieht sich sowohl auf hydrolytische Reaktionen von Organohalogensilanen (Äquilibrierung nach Schnurrbusch) als auch auf Äquilibrierungsreaktionen cyclischer Monomere (z.B. Äquilibrierung mit D_4). Beide Äquilibrierungen haben eine Gleichgewichtsverteilung von Ringen und Ketten zur Folge. In Abwesenheit von Endgruppen erhält man im thermodynamischen Gleichgewicht eine Gaussverteilung für die Ketten sowie eine monoton fallende Verteilung für die Ringspezies (75-80,58,62).

Wenn die beiden Enden einer Kette nahe genug beieinanderliegen, kann es zur Ringbildung kommen. Die Theorie von Jacobson und Stockmayer basiert auf der Voraussetzung, daß die Wahrscheinlichkeit hierfür proportional zum Verhältnis von Ringen und Ketten im Gleichgewicht ist. Zur Entwicklung der Theorie wurden folgende Reaktionen angenommen:

Rkt.1: $-M_y- \rightleftharpoons -M_{y-x}- + -M_x-$

Rkt.2: $-M_x- \rightleftharpoons C-M_x$

(wobei M für die Monomereinheit, C-M für die cyclische Form der Monomereinheit und x bzw. y für den Polymerisationsgrad stehen).

Reaktion 3 stellt die Summe von 1 und 2 dar.

Rkt.3: $-M_y- \rightleftharpoons -M_{y-x}- + C-M_x$

Die Gleichgewichtskonstante K_x für die Ringbildung in Reaktion 3 erhält man aus Entropiebetrachtungen. Den Reaktionen 1-3 können die Entropiegleichungen 1-3 zugeordnet werden.

Gl.1: $$\Delta S_{(1)} = k \ln\left[\frac{V}{\sigma_A \, v_s}\right]$$

Gl.2: $$\Delta S_{(2)} = k \ln\left[P \frac{\sigma_A}{\sigma_{Rx}}\right]$$

Gl.3: $$\Delta S_{(3)} = k \ln\left[\frac{VP}{\sigma_{Rx} \, v_s}\right]$$

(V = Volumen des Systems; σ_A bzw. σ_{Rx} sind aus Symmetriebetrachtungen erhältlich und im Falle von Dimethylsiloxyeinheiten jeweils 2.)

Damit es zur Ringbildung kommt, muß die Kette eine geeignete Konformation besitzen. Die Wahrscheinlichkeit für eine solche Konformation wird durch "P" bzw. als Integral einer Gauss-Funktion ausgedrückt (Gl.4).

Gl.4: $$P = \int_0^{v_s} W_x(\vec{r}) d\vec{r}$$

Diese Gauss'sche Verteilungsfunktion "$W_{x(\vec{r}=0)}(\vec{r})$" beschreibt die Dichte der Vektorsummen, $\vec{r}$, in der Nähe von $\vec{r}=0$ (denn $\vec{r}=0$ bedeutet Ringschluß). v_s ist das Volumenelement, welches zwei Enden zum Ringschluß benötigen. Für die Gleichgewichts-

konstante K_x (aus Gl.3 ableitbar) ergibt sich somit in Gl.5:

Gl.5: $$K_x = \frac{[C\text{-}M_x][\text{-}M_{y-x}\text{-}]}{[\text{-}M_y\text{-}]} = \frac{[C\text{-}M_x]}{p_x}$$

wobei p_x den Beitrag an der Reaktion beteiligter funktioneller Endgruppen der Kettenfraktion darstellt.

Von besonderem Interesse sind die Schlußfolgerungen dieser Betrachtungsweise. Es zeigt sich, daß die Konzentration der Ringe nicht von der Verdünnung abhängt. Jedoch wird die Zahl der Ringe mit zunehmender Verdünnung größer und somit das Verhältnis Ringe/Ketten zugunsten der Ringe verschoben. Durch Äquilibrierung in Lösung oberhalb eines "kritischen Verdünnungspunktes" werden deshalb ausschließlich Ringe dargestellt.

Da im Äquilibrium nicht nur Ketten und Ringe, sondern auch diese untereinander im Gleichgewicht vorliegen müssen, gelangt man zu der von Jacobson und Stockmayer aufgestellten Molekulargewichtsverteilung eines "Ring-Ketten-Äquilibrierten-Polymers", unabhängig davon, ob Ringe gebildet werden oder nicht (Fig.28 (62)).

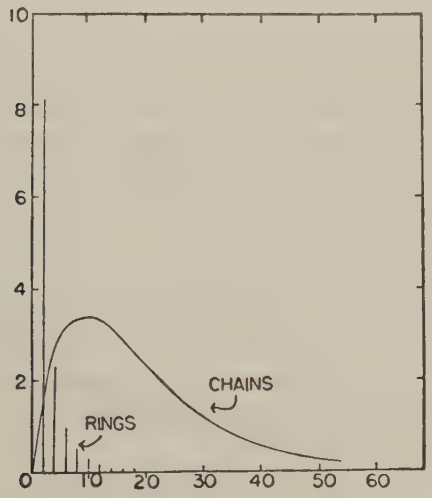


Fig.28: Molekulargewichtsverteilung eines "Ring-Ketten-Äquilibrierten-Polymers". Die Darstellung erfolgt als Gewichtsprozent gegen den Polymerisationsgrad (62).

Einen Schwachpunkt der Theorie konnten Jacobson und Stockmayer allerdings nicht beheben. Im Falle kleiner, aber noch ungespannter Ringe werden höhere Konzentrationen gefunden, als die Theorie vorhersagt. Flory und Semlyen (75) führten dieses auf eine unzureichende Betrachtungsweise im Volumenelement v_s zurück. Sie waren der Meinung, daß lediglich die Wahrscheinlichkeit für das Vorhandensein von zwei Enden in v_s nicht ausreicht, um die Bildung einer Siloxanbindung zu erklären. Damit es zur Ausbildung einer Bindung kommt, ist es wichtig, daß sich die beiden Enden unter einem bestimmten Winkel treffen. Durch Einführung dieses Winkels ist allerdings das Einsetzen von P in die Entropiegleichung zwar noch für große, nicht mehr aber für kleine Ketten erlaubt.

In der Folgezeit wurden mehrere experimentelle Bestimmungen der Molekulargewichtsverteilung von Polysiloxanen durchgeführt und mit den theoretischen Vorhersagen verglichen. Von Gl.5 ausgehend ist eine Berechnung der cyclischen Gewichtsfraktion (w_r) durchführbar. Das Ergebnis wird in Gl.6 wiedergegeben.

Gl.6:
$$w_r = \left(\frac{3}{\pi}\right)^{3/2} \frac{M_o}{2^4\, l^3\, N_A c} \sum_{x=4}^{\infty} (xC_x)^{-3/2}$$

(c = Gesamte Siliconkonzentration in g/l,

M_o = Molekulargewicht einer Siloxyeinheit,

l = Länge einer Siloxyeinheit,

$C_x = \dfrac{\langle \vec{r}_x^{\,2} \rangle_o}{2 \times l^2}$ und

N_A = Avogadro'sche Konstante)

Fig.29 zeigt den Vergleich von theoretischer Voraussage und experimenteller Bestimmung der Cyclenbildung.

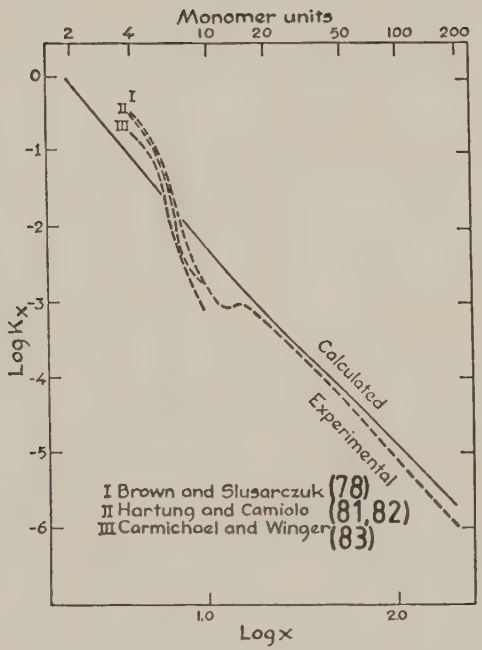


Fig.29: Vergleich von theoretischer Voraussage und experimenteller Bestimmung der Cyclenbildung von Poly-(dimethylsiloxanen) (75)

Ohne näher auf die Äquilibrierungsbedingungen einzugehen (siehe Originalliteratur), erkennt man leicht das Abweichen kleiner Ringe von der Theorie, während für große Ringe (ab x=15) Theorie und Experiment sehr gut übereinstimmen.

3. Gaschromatographische Trennung homologer Siloxane

Über die gaschromatographische Trennung hochsiedender Organopolysiloxane ist bislang sehr wenig berichtet worden. Hervorzuheben ist die Arbeit von Carmichael, Gordon und Ferguson (84), die Äquilibrierungsreaktionen des Typs

$$MM + D_4 \xrightarrow{\text{Kat.}} MD_xM + D_y$$

$$\text{bzw.} \quad MD_8M \xrightarrow{\text{Kat.}} MD_xM + D_y$$

durchgeführt und gaschromatographisch verfolgt haben. Aus einer benzolischen Lösung des Polymers wurde durch Fällung mit Methanol die homologe Reihe der cyclischen Siloxane isoliert und gaschromatographisch getrennt. Es gelang dabei, die Bestandteile bis $D_{40} = [(H_3C)_2SiO]_{40}$ (dies entspricht einer Molekularmasse von MG=2960) zu bestimmen. In Fig.30 ist das Chromatogramm der durch Äquilibrierung von MD_8M entstandenen Polysiloxane wiedergegeben; Fig.31 zeigt die Änderung der einzelnen Fraktionen während der Äquilibrierung.

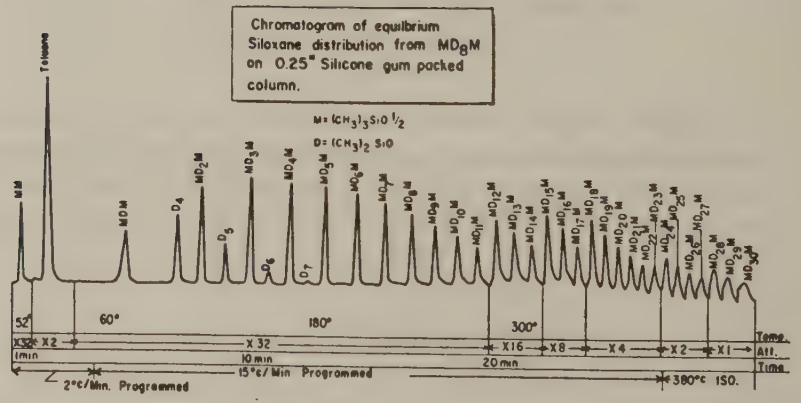


Fig.30: Gaschromatogramm durch Äquilibrierung von MD_8M entstandener Polysiloxane (84)

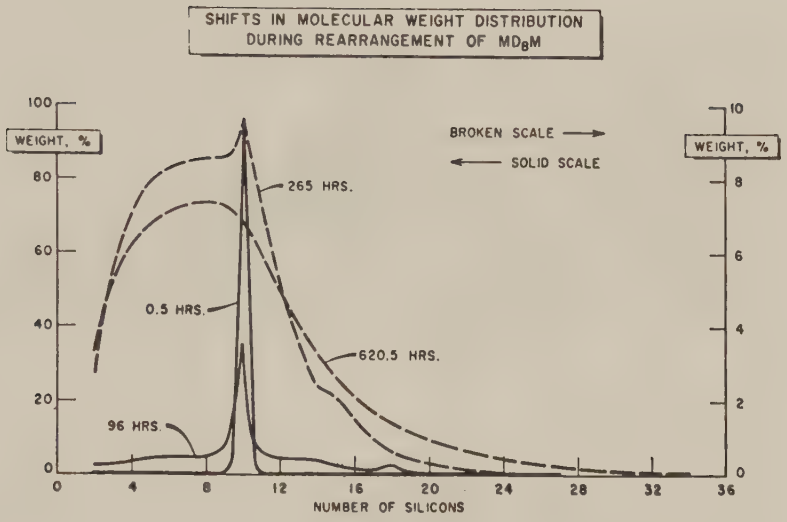


Fig.31: Änderung der Fraktionen während der Äquilibrierung (84)

Obwohl die berichteten Ergebnisse (84) nicht in Zusammenhang mit der Theorie von Jacobson und Stockmayer interpretiert wurden, fallen dennoch Gemeinsamkeiten auf. Man findet eine monoton fallende Reihe cyclischer Siloxane (vgl.Fig.30) und eine Gauss-Verteilung für Ketten, wie dies die Theorie vorhersagt. Fig.31 belegt die Schwierigkeit, das Copolymer für die Chirasil-Val-Synthese durch Äquilibrierung mit D_4 darzustellen. Für den "relativ leichteren" Fall der Äquilibrierung von MD_8M werden 620,5 Stunden benötigt, bis thermodynamisches Gleichgewicht vorliegt (wobei nicht ersichtlich ist, ob das Gleichgewicht wirklich erreicht oder ob die Reaktion nur bis zu diesem Zeitpunkt kontrolliert worden ist). Die Trennung der cyclischen Poly-(dimethyl)-siloxane wird in Fig.32 (84) beschrieben.

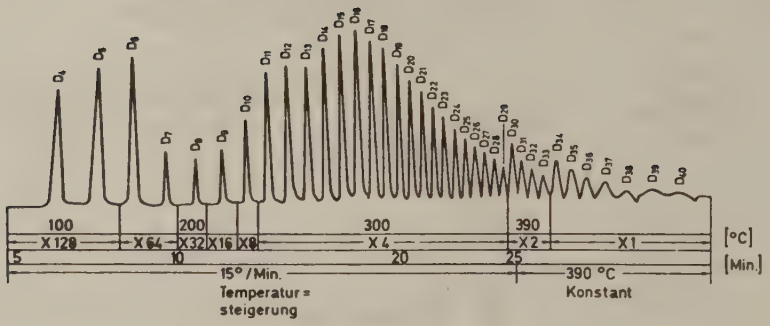


Fig.32: Gaschromatographische Trennung cyclischer Dimethylsiloxane (84,87)

Bei der stationären Phase in Fig.30 und 32 handelt es sich um einen 9%-igen Diphenylsiloxan-Copolymer-Gummi. Die chromatographischen Bedingungen waren:

WLD-Detektor: 350°C
Injektor-Temp.: 350-360°C
Trägergas : Helium

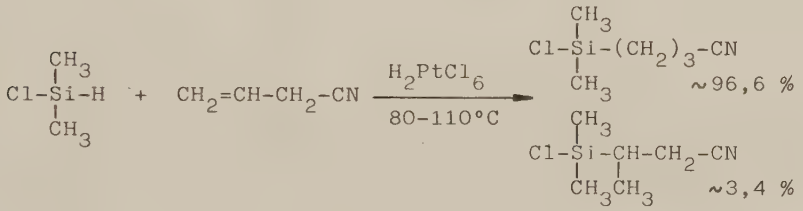
Da die cyclische Fraktion durch Extraktion mehrerer hochmolekularer Polymere gewonnen wurde, kann bezüglich der gefundenen Verteilungsfunktion (in Fig.32) keine Aussage gemacht werden.

Zu ähnlichen Ergebnissen kommen russische Autoren, die neben der Trennung von Poly-(dimethyl)-siloxanen (85) auch α,ω Dihydro-dimethylpolysiloxane (86) an SE-30 Säulen trennen.

Über die Trennung homologer Siloxanreihen mit α,ω -ständigen funktionellen Gruppen, wie dies die Syntheseplanung vorsieht, wird in der Literatur nicht berichtet. Die Flüchtigkeit der Siloxane wird aufgrund der Esterreste zunehmen. Wo allerdings die Grenze für die gaschromatographische Analytik der funktionalisierten Siloxane liegt, muß durch das Experiment geklärt werden.

4. Durchführung der Synthesen

Die Darstellung von Chlordimethylsilylbutyronitril verläuft analog der von Speier (46) beschriebenen Darstellung von Dichlormethylsilylbutyronitril. Die Hydrosilylierung mit einem Nitril ist vorzuziehen, da die Verseifungsprodukte wie auch die Copolymere durch Derivatisierung mit Diazomethan als Methylester bestimmt werden sollen. Die Hydrolyseprodukte belegen, daß bei der Addition des Silans an die Doppelbindung des Allylcyanids sowohl das "Anti-Markownikow-Produkt" als auch das "Markownikow-Produkt" entstanden ist. Die Reaktion läßt sich folgendermaßen beschreiben:



Eine destillative Trennung der beiden Produkte ist nicht möglich. Die anschließende Hydrolyse ergibt somit drei "dimere" Produkte, wobei die Existenz von α,ω -Di- β -methylpropionitril-tetramethyldisiloxan nur durch Überlastung der Säule gaschromatographisch nachgewiesen werden kann.

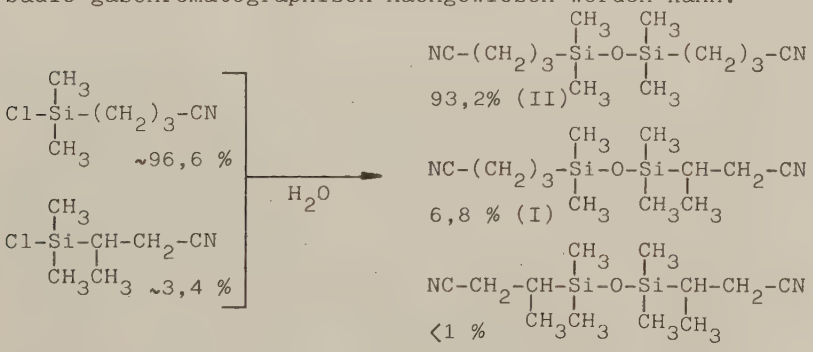


Fig.33 zeigt die bei der Hydrolyse dargestellten Dimere sowie die Effektivität des destillativen Reinigungsschrittes.

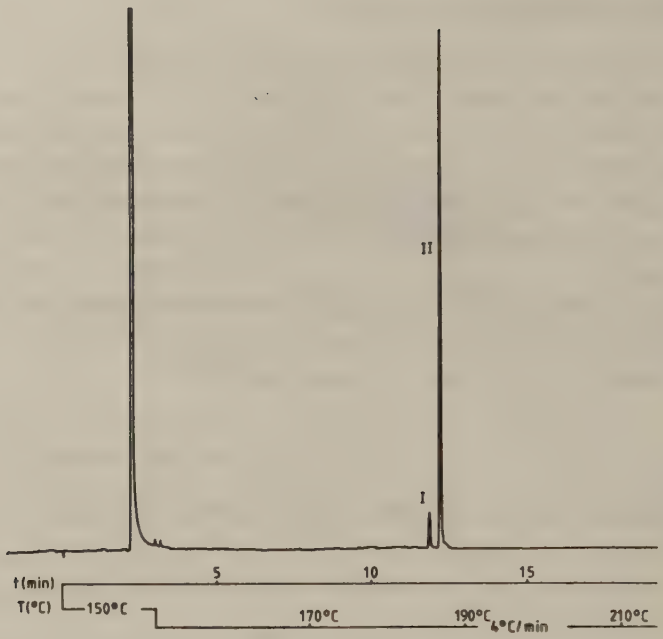


Fig.33: GC der Hydrolyseprodukte von "Chordimethylsilyl-butyronitril"

Säule: Durabond 30 N (30 m Quarzkaillare)

p_i= 0,6 kg/cm² H_2

T = 150/3/4/290°C

Durch GC/MS-Kopplung werden die Produkte zwar identifiziert (Fig.34: MS von II aus Fig.33), die genaue Zuordnung kann allerdings aus den Massenspektren nicht interpretiert werden. Man erhält für beide Verbindungen ziemlich identische Massenspektren mit geringen Intensitätsabweichungen. Die Zuordnung erfolgt somit durch Analogschluß zu anderen isomeren Strukturen, bei denen auch jeweils das verzweigte vor dem linearen Isomer eluiert.

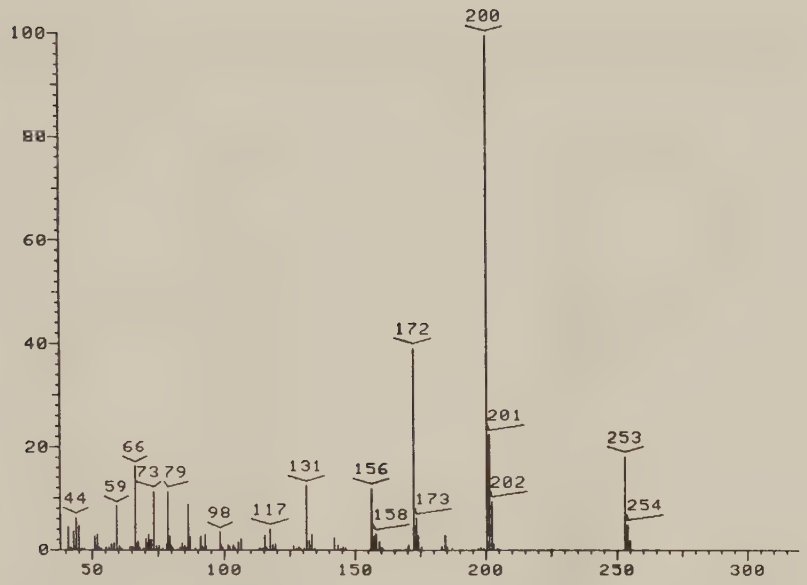
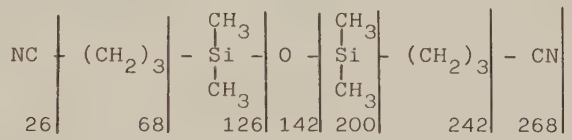


Fig.34: Massenspektrum von α,ω -Dibutyronitril-tetramethyl-disiloxan

Zuordnung der wichtigsten Signale aus Fig.34:



Charakteristisch ist, daß allen Silikonspektren M^+ fehlt, dafür aber M-15 (=Abspaltung einer Methylgruppe vom Silizium) vorhanden ist. Da die Si-C Bindung die schwächste Bindung im Molekül darstellt, findet man folgerichtig m/e=200 als intensivstes Fragment.

Im nächsten Schritt erfolgt die Verseifung der Nitrilgruppen mit NaOH. Die Reaktionsbedingungen werden wie die Nitrilverseifung bei der Chirasil-Val-Synthese gewählt, damit ein Vergleich der beiden Reaktionen möglich wird. Nach drei Stunden wird eine erste Probe entnommen, mit Schwefelsäure angesäuert und nach erfolgter Phasentrennung

mit Diazomethan derivatisiert. Die gaschromatographische Kontrolle ergibt das in Fig.35 dargestellte Chromatogramm.

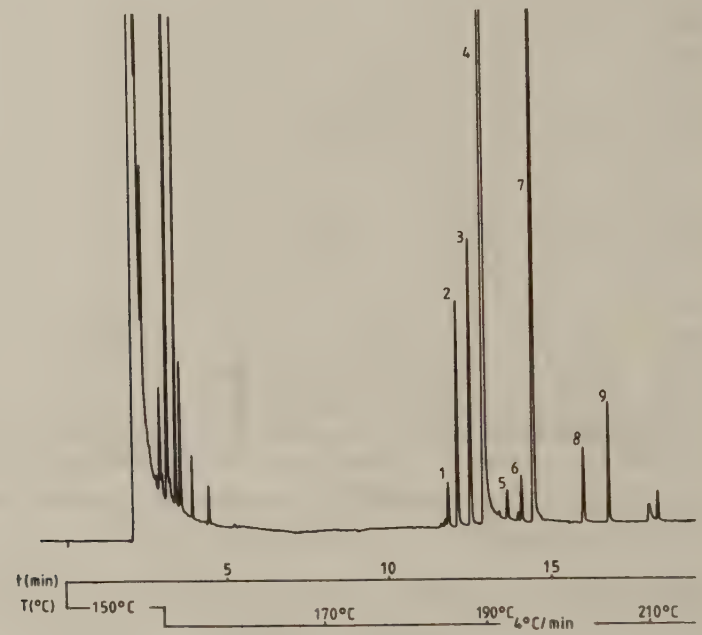


Fig.35: GC des Verseifungsschrittes von α,ω -Dibutyronitril-tetramethyldisiloxan
Säule: Durabond 30 N (30 m Quarzkapillare)
p_i = 0,6 kg/cm² H_2
T = 150/3/4/290°C

Durch GC/MS-Kopplung werden die Produkte identifiziert und wie folgt zugeordnet:

(⊤ = $-CH_2-\underset{CH_3}{CH}-$; —— = $-(CH_2)_3-$; - - - = $-\underset{CH_3}{\overset{CH_3}{Si}}-O-\underset{CH_3}{\overset{CH_3}{Si}}-$)

1: NC ⊤ - - - —— $COOCH_3$
2: NC —— - - - —— $COOCH_3$
3: H_3COOC ⊤ - - - —— $COOCH_3$
4: H_3COOC —— - - - —— $COOCH_3$
5: NC —— - - - —— $COOC_2H_5$

6: H_3COOC — — — $COOC_2H_5$

7: H_3COOC — — — $COOC_2H_5$

8: C_2H_5OOC — — — $COOC_2H_5$

9: H_3COOC — — — $O-Si(CH_3)_2-COOCH_3$

Die Massenspektren der Verbindungen 1-9 sind in Fig.36 a bis i aufgelistet.

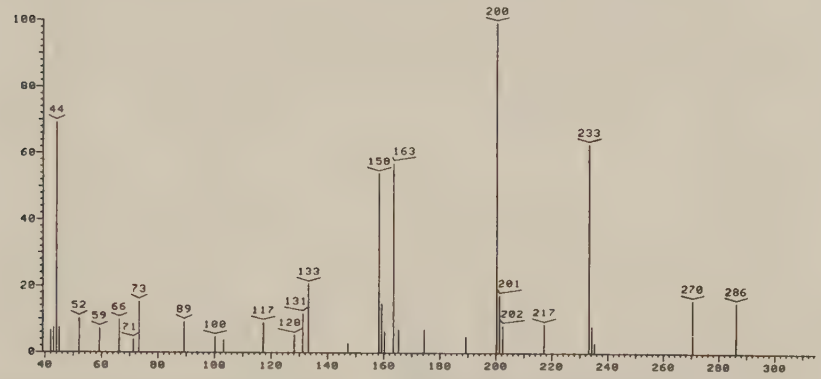


Fig.36a: Massenspektrum von Verbindung 1 aus Fig.35

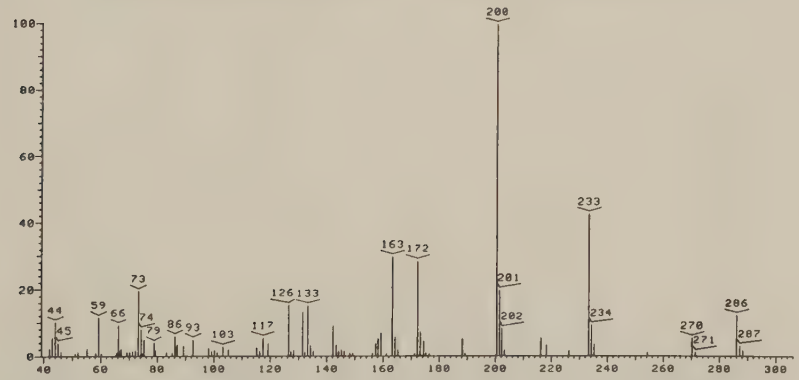


Fig.36b: Massenspektrum von Verbindung 2 aus Fig.35

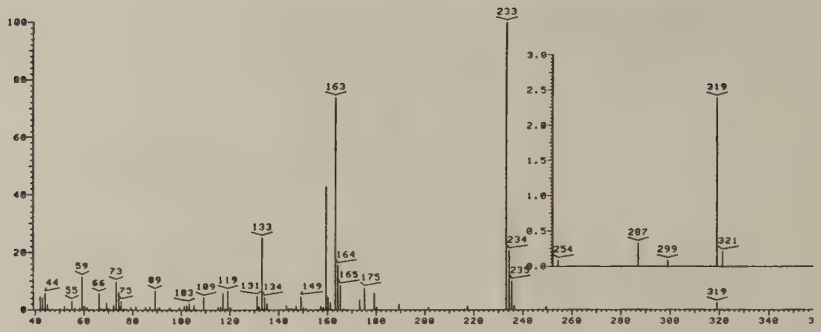


Fig.36c: Massenspektrum von Verbindung 3 aus Fig.35

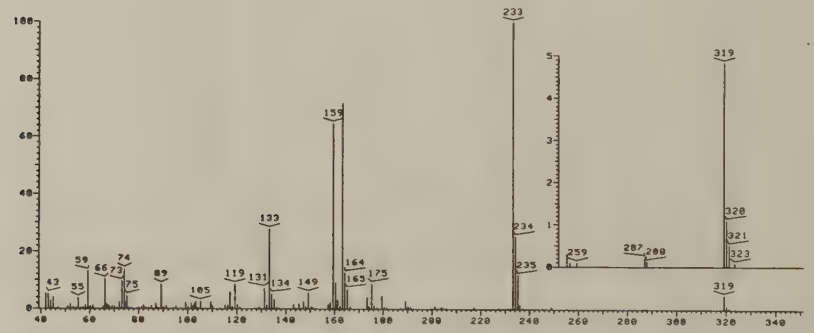


Fig.36d: Massenspektrum von Verbindung 4 aus Fig.35

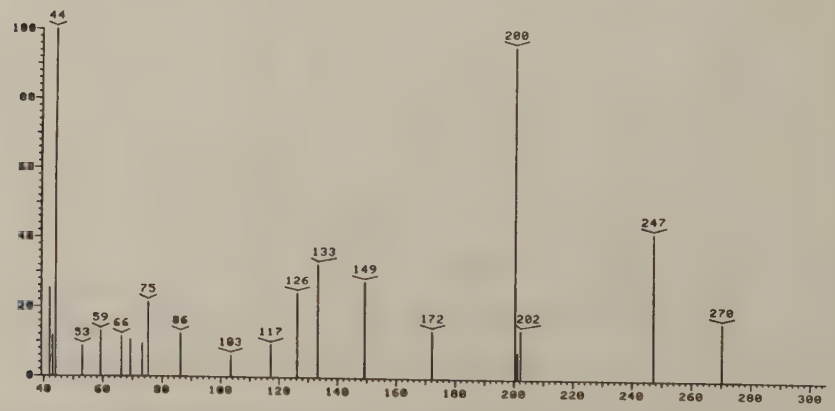


Fig.36e: Massenspektrum von Verbindung 5 aus Fig.35

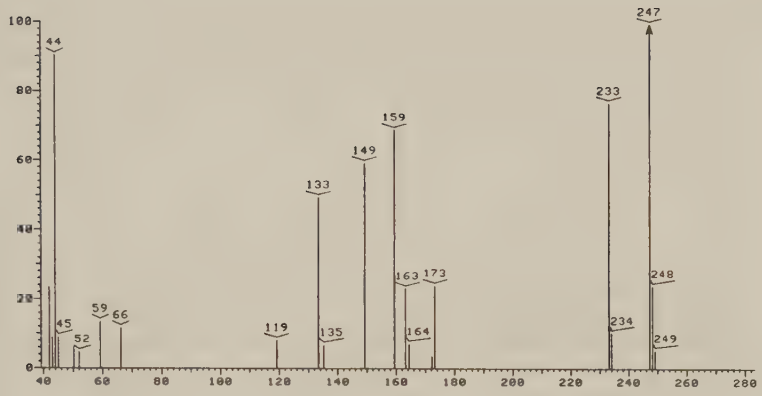


Fig.36f: Massenspektrum von Verbindung 6 aus Fig.35

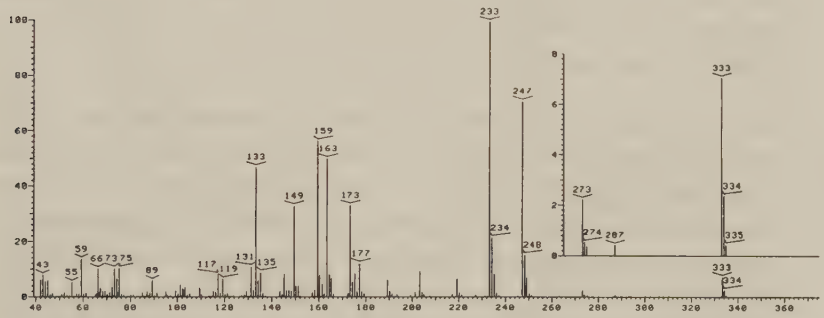


Fig.36g: Massenspektrum von Verbindung 7 aus Fig.35

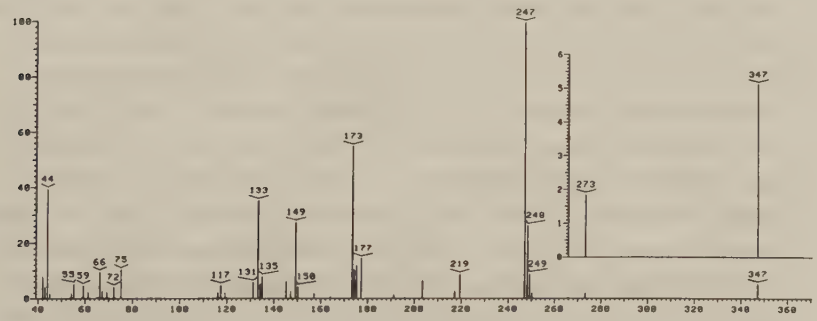


Fig.36h: Massenspektrum von Verbindung 8 aus Fig.35

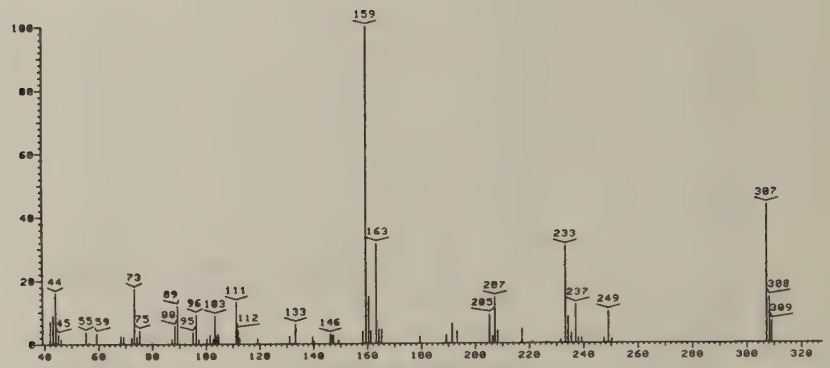


Fig.36i: Massenspektrum von Verbindung 9 aus Fig.35

Für die Interpretation der Massenspektren gilt entsprechend das für Fig.34 Gesagte (eine ausführliche Interpretation folgt im Kapitel II.6.).

Fig.35 belegt eindrucksvoll, daß die Verseifung der Nitrilgruppen noch nicht abgeschlossen ist. Folgenschwerer aber wiegt das Vorhandensein der Ethylestergruppen. Diese Ethylesterbildung wurde bislang bei der Darstellung von Poly-(γ -methylsiloxybuttersäure) AC nicht berücksichtigt. Die Verseifung der Nitrilgruppen zur Carbonsäure wurde als abgeschlossen betrachtet, wenn mit pH-Papier kein Ammoniak mehr nachweisbar war. In der Regel war das nach 4 Stunden der Fall. Es muß daher angenommen werden, daß die bislang beschriebenen Chirasil-Val AC-Phasen noch erhebliche Ethylesteranteile besitzen. Die Polaritätsabweichungen dieser Phasen untereinander kommen deshalb durch die Verseifungsdauer bzw. dem unterschiedlichen Verseifungsgrad des Ethylesters zustande.
Nach 24 Stunden ergibt eine weitere Messung, daß zwar keine Nitril-,wohl aber noch Ethylestergruppen vorliegen. Daraufhin wird das Ethanol am Rotationsverdampfer abgezogen und die verbleibende Lösung nochmals 2,5 Stunden unter Rückfluß erhitzt. Die gaschromatographische Kontrolle ergibt jetzt

für Verbindung 7 nur noch einen Anteil von ca. 0,5 % (vgl. Fig.37). Zu diesem Zeitpunkt wird die Verseifung beendet, die Lösung aufgearbeitet und die Polymerdarstellung mit den in Fig.37 dargestellten Verbindungen durchgeführt.

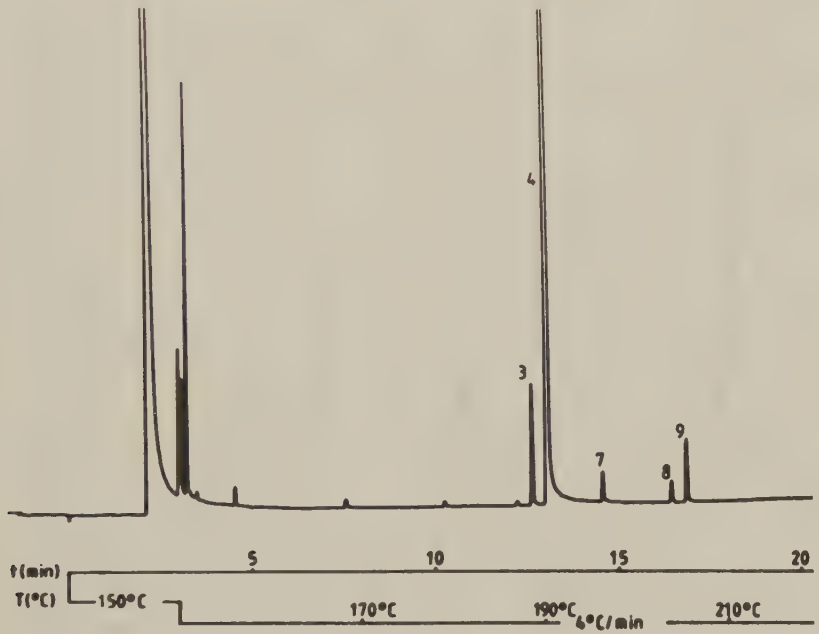


Fig.37: GC nach der Verseifung von α,ω -Dibutyronitriltetramethyldisiloxan

Säule: Durabond 30 N (30 m Quarzkapillare)
p_i = 0,6 kg/cm² H_2
T = 150/3/4/290°C

Die Darstellung des bifunktionellen Polymers erfolgt zuerst nach der modifizierten Schnurrbusch-Methode. Die Reaktionsbedingungen sind die gleichen wie bei der Äquilibrierung des Copolymers zur Chirasil-Val-Synthese. Als erstes sollte die Darstellung eines kleinen Oligomers mit fünf Siliziumatomen pro Molekül erfolgen (d.h. Äquilibrierung von einem Mol α,ω -Dibuttersäure-tetramethyl-

disiloxan mit drei Mol Dichlordimethylsilan). Als Ergebnis dieser Äquilibrierung erhält man ein Produktgemisch, das in Fig.38 wiedergegeben ist.

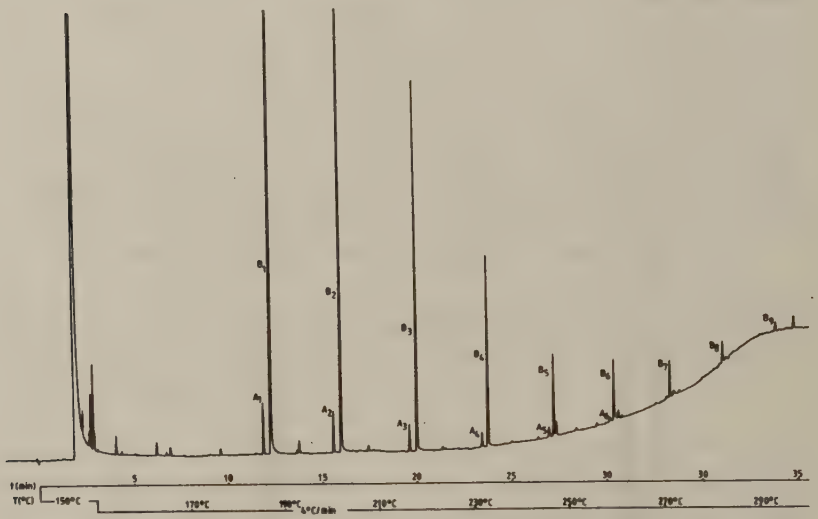


Fig.38: GC der Darstellung von α,ω -Dibuttersäure-decamethylpentasiloxan (die Carboxygruppen werden vorher mit Diazomethan verestert)

Säule: Durabond 30 N (30 m Quarzkapillare)

p_i = 0,6 kg/cm² H_2

T = 150/3/4/290°C

Inj. T.= 350°C

Durch GC/MS-Kopplung werden die beiden homologen Reihen wie folgt identifiziert:

$A_1 - A_8$ = $H_3COOC-CH_2-CH(CH_3)-[Si(CH_3)_2-O]_n-Si(CH_3)_2-(CH_2)_3-COOCH_3$ mit n = 1(A_1)-8(A_8)

$B_1 - B_9$ = $H_3COOC-(CH_2)_3-[Si(CH_3)_2-O]_n-Si(CH_3)_2-(CH_2)_3-COOCH_3$ mit n = 1(B_1)-9(B_9)

Da die Äquilibrierung nicht in Lösung durchgeführt wurde, findet man in Einklang mit der Theorie von Jacobson und Stockmayer fast keine Ringe. Gänzlich ausschließen kann man die Ringe allerdings nicht, da im GC Produkte in kleinen Mengen beobachtet werden, die der Massenspektrometer jedoch nicht registriert. Die Verteilung der linearen Produkte steht allerdings im Widerspruch zur Theorie. Anstelle der erwarteten Gaussverteilung findet man eine monoton fallende Reihe, wie das für Cyclen vorhergesagt wird. Der Grund dürfte eine unzureichend durchgeführte Äquilibrierung sein. Eine quantitative Bestimmung der einzelnen Komponenten ist zwar nur durch Ermittlung der jeweiligen Response-Faktoren möglich, die Verteilung ändert sich jedoch deshalb nicht wesentlich. Da es sich um homologe Reihen handelt, soll im folgenden die Produktverteilung ohne Berücksichtigung der Response-Faktoren beschrieben werden. Wie gezeigt werden kann, ist der Fehler, der sich dadurch ergibt, äußerst klein.
Um die Produktverteilung mathematisch zu beschreiben, werden die durch den Integrator bestimmten unkorrigierten Ausbeuten in Relation zur Kettenlänge gesetzt. Obwohl es sich hierbei um eine Näherung handelt, sind die Ergebnisse dieser Betrachtungsweise sehr genau.
Die Verteilungsfunktion f(x) wird mit den ersten vier Wertepaaren bestimmt und die restlichen Wertepaare mit der erhaltenen Funktion verglichen. Als Rechnerprogramm wird das Programm Nr.30 (Exponential-Kurvenanpassung) der HP 25 Programmsammlung benutzt. Dieses Programm errechnet die Anpassung nach der Methode der kleinsten Quadrate an n Datenpaare $[(x_i, f(x_i)), i=1,2,...n]$ mit $f(x_i) > 0$ mittels einer Exponentialfunktion der Form

$$f(x) = a \cdot e^{bx} \quad (a > 0).$$

Die Gleichung wird dabei wie folgt linearisiert:

$$\ln f(x) = \ln a + bx$$

Das Programm liefert darüber hinaus mit r^2 = Bestimmtheitsmaß noch eine Größe für die Wahrscheinlichkeit der Übereinstimmung von errechneter und experimenteller Funktion. Bei Berücksichtigung der ersten vier Wertepaare erhält man:

$$f(x) = 107{,}26\ e^{-0{,}55x} \qquad \text{mit } r^2 = 0{,}99$$

Fig.39 zeigt den Graphen dieser Funktion zusammen mit den experimentell ermittelten Werten.

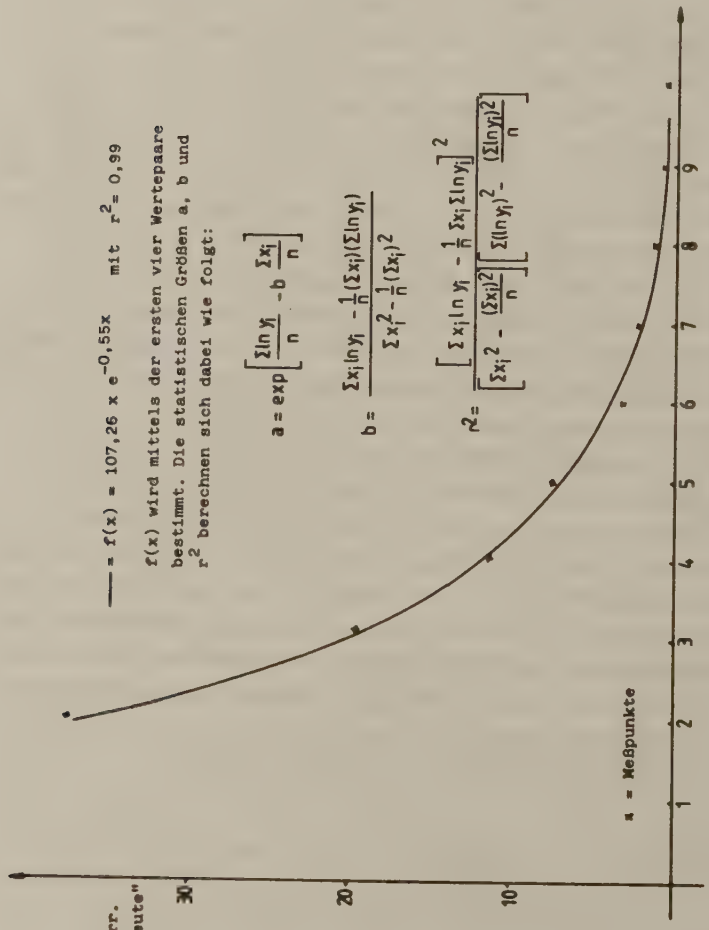


Fig.39: Vergleich der Funktion $f(x) = 107{,}26\ e^{-0{,}55x}$ mit den Integrationswerten der Darstellung von α,ω -Dibuttersäure-decamethylpentasiloxan

Man erkennt, daß die Funktion f(x) die Verteilung der Produkte auch für die restlichen Wertepaare sehr gut wiedergibt. Durch Integration der Funktion f(x) ist die Fläche von x = 2 bis ∞ und damit verbunden die mittlere Anzahl von Siliziumatomen u im Molekül bestimmbar. Dieser Wert war bisher nur aus integrierten ^{1}H-NMR-Spektren zu entnehmen. Ein Vergleich des aus f(x) berechneten Wertes für u mit dem des ^{1}H-NMR-Spektrums stellt somit ein gutes Kriterium für die Zulässigkeit von f(x) als Verteilungsfunktion dar.

$$\int_2^{\infty} a \cdot e^{-bx}\, dx = \left[-\frac{a}{b} e^{-bx} \right]_2^{\infty} = F_2^{\infty}$$

Durch Grenzwertbetrachtung ist die Fläche F_2^{∞} (=Fläche unter der Funktion f(x) von x=2-∞) und damit verbunden u zugänglich.

$$\int_2^{u} a \cdot e^{-bx}\, dx = \frac{F_2^{\infty}}{2}$$

Für die Funktion $f(x) = 107{,}26\ e^{-0{,}55x}$ ergibt sich u = 3,26. Aus dem integrierten ^{1}H-NMR-Spektrum erhält man für u = 3,4. Die gute Übereinstimmung der u-Werte läßt erkennen, daß die Betrachtung von f(x) als Verteilungsfunktion durchaus zulässig ist, obwohl es sich nur um eine Näherung handelt.

(Zur Nomenklatur: Im folgenden soll das Gemisch, das bei der Darstellung von α,ω -Dibuttersäure-decamethylpentasiloxan entstanden ist, mit Polydimethylsiloxy-$\overline{3,4}$- α,ω -dibuttersäure bezeichnet werden.)

Die Eignung dieses relativ niedermolekularen Gemisches als stationäre Phase für die Enantiomerentrennung wird durch Kupplung mit L-Val-t-butylamid bestimmt.
Ein Vorversuch zeigt, daß die resultierende Phase der Kupplung von α,ω -Dibuttersäure-tetramethyldisiloxan mit L-Val-t-butylamid sich für die Racemattrennung nicht eignet. Die Phase ist pentanunlöslich, und eine statische Belegung

mit einer Methylenchloridlösung scheiterte, da die Phase nicht auf der Kapillare haften bleibt.

Für die Kupplung wird CDI als Kupplungsreagenz verwendet, als stationäre Phase nur der entstandene pentanlösliche Anteil. Die Belegung der ersten Kapillare mit dieser Phase wird statisch durchgeführt. Da keine Anhaltspunkte für die Temperaturstabilität vorliegen, wird die Kapillare in mehreren Schritten konditioniert. Die Ergebnisse dieses schrittweisen Ausheizens lassen sich folgendermaßen protokollieren:

1) 30 Minuten Ausheizen bei 130°C

   D,L-Alanin (PFP/n-Propyl-Ester) wird mit einem α-Wert von 1,28 (80°C isotherm) getrennt. Die Trennung eines C_{12}-C_{15} Testgemisches verläuft ebenfalls recht deutlich.

2) 24 Stunden Ausheizen bei 200°C

   Das Zusammenrücken der vier C_{12}-C_{15} Peaks deutet bereits auf eine Verschlechterung der Trennleistung hin. Einspritzen eines Aminosäure-D,L-Testgemisches zeigt, daß nur noch bei höheren Temperaturen Aminosäureenantiomere getrennt werden (allerdings immer noch mit hohen Trennfaktoren). Die Peaks erscheinen recht breit, was auf eine Unterbelegung der Säule zurückzuführen ist. Diese Unterbelegung läßt sich durch den Verlust flüchtiger Moleküle erklären. In Fig.40a ist das Chromatogramm eines D,L-Aminosäuretestgemisches abgebildet, das nur Phe, Glu, Tyr, Orn, Lys und Trp enthält.

3) 12 Stunden Ausheizen bei 260°C

   Überraschenderweise kommt es zu keiner wesentlichen Verschlechterung der Trennleistung. Fig.40b zeigt die Trennung des gleichen D,L-Testgemisches wie Fig.40a. Die gute thermische Stabilität der Phase wird deutlich.

4) 3 Stunden Ausheizen bei 310°C

   Man stellt zwar eine Verschlechterung der Trennleistung

fest, das Aminosäuretestgemisch wird jedoch immer noch gut getrennt (vgl. Fig.40c).

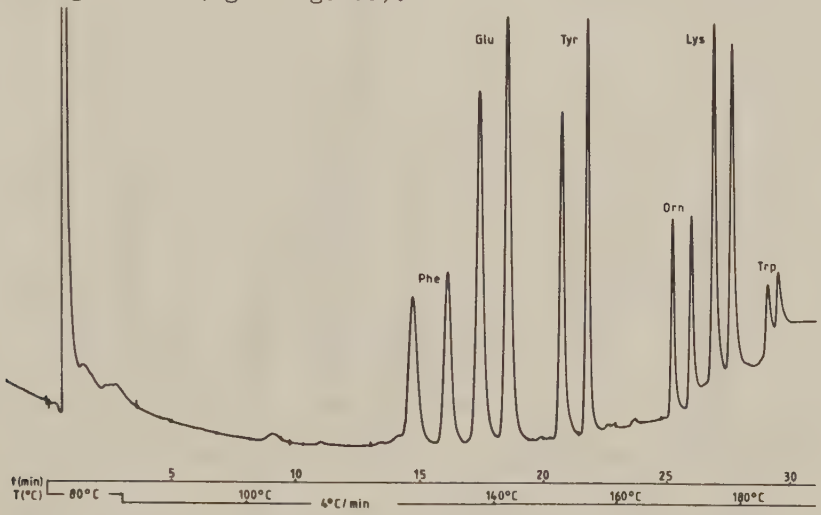


Fig.40a: Enantiomerentrennung eines Aminosäuretestgemisches

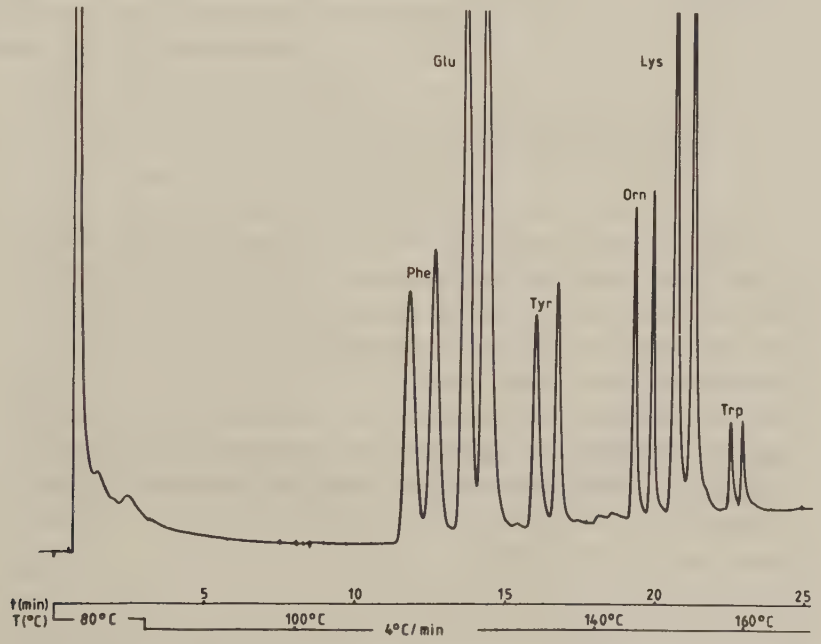


Fig.40b: Enantiomerentrennung eines Aminosäuretestgemisches

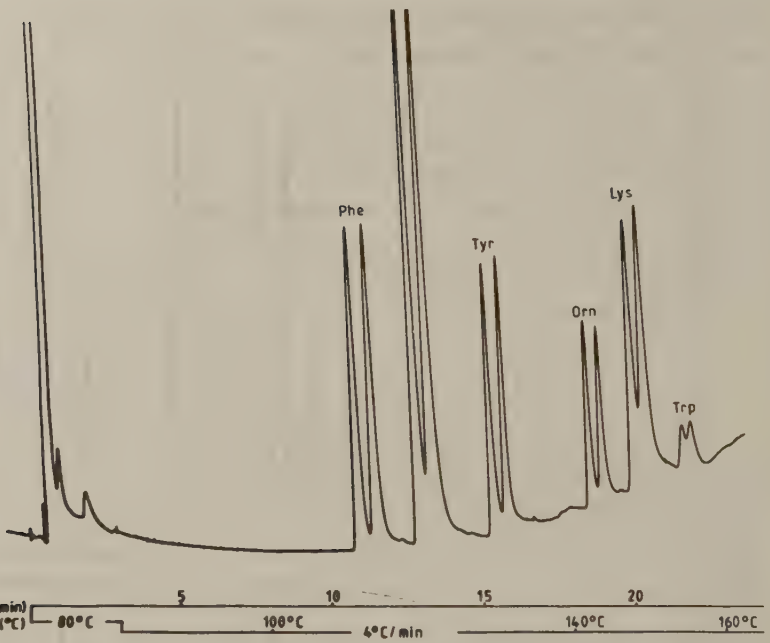


Fig.40c: Enantiomerentrennung eines Aminosäuretestgemisches

zu Fig.40a-c: Derivate: (PFP/n-Propylester)

p_i = 0,4 kg/cm² H_2

T = 80/3/4/200°C

Die Ergebnisse überraschen in zweierlei Hinsicht. Zum einen wird deutlich, daß relativ kleine Silikonmoleküle durchaus als stationäre Phase verwendet werden können; zum anderen zeichnen sich diese Phasen durch eine hohe thermische Stabilität aus.

Eine zusätzliche Verbesserung des Chromatogramms erhält man durch dynamische Belegung der Kapillare. In Fig.41 ist das Gaschromatogramm des gleichen Aminosäuretestgemisches wie in Fig.40a-c für eine dynamisch belegte Glaskapillare wiedergegeben.

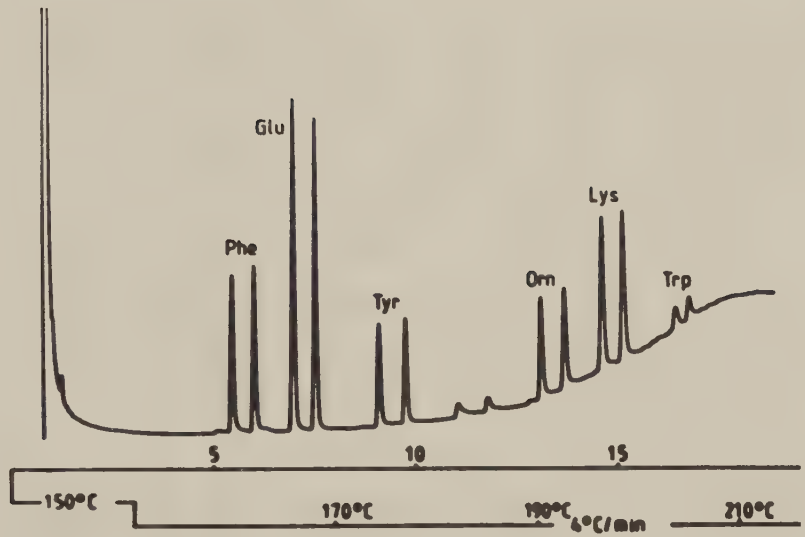


Fig.41: GC des Aminosäuretestgemisches wie in Fig.40a-c. (Die Kapillare wurde mit einer 15 %-igen Pentanlösung dynamisch belegt)
p_i= 0,28 kg/cm² H_2
T = 150/3/5/200°C

Die zweite Versuchsreihe hatte die Darstellung von " α,ω -Dibuttersäure-eikosamethyldecasiloxan" bzw. eines Gemisches mit diesem Mittelwert zum Ziel. Durch einen höheren Anteil längerkettiger Siloxane sollte die resultierende Phase die Enantiomerentrennung in tieferen Temperaturbereichen gestatten. Desweiteren sollte länger äquilibriert und die Schnurrbusch-Methode mit der D_4-Äquilibrierung verglichen werden. Die beiden Chromatogramme in Fig.42 und Fig.43 beschreiben das jeweils entstandene Polymergemisch. Die Äquilibrierung in Fig.42 wird mit Dichlordimethylsilan, diejenige in Fig.43 mit Oktamethylcyclotetrasiloxan durchgeführt.

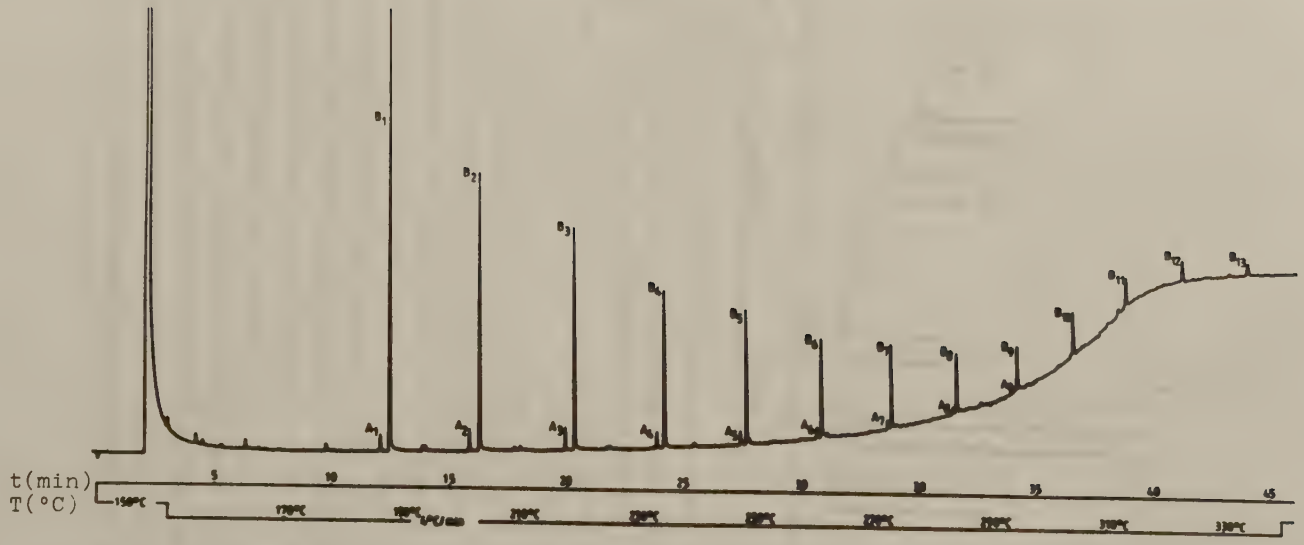


Fig.42: Produkte der Äquilibrierung von α,ω -Dibuttersäure-tetramethyldisiloxan mit Dichlordimethylsilan im molaren Verhältnis 1:8. Die Carboxygruppen sind mit Diazomethan verestert.

Säule: Durabond 30 N (30 m Quarzkapillare)

p_i = 0,6 kg/cm² H_2

T = 150/3/4/320°C

Inj.T.= 380°C

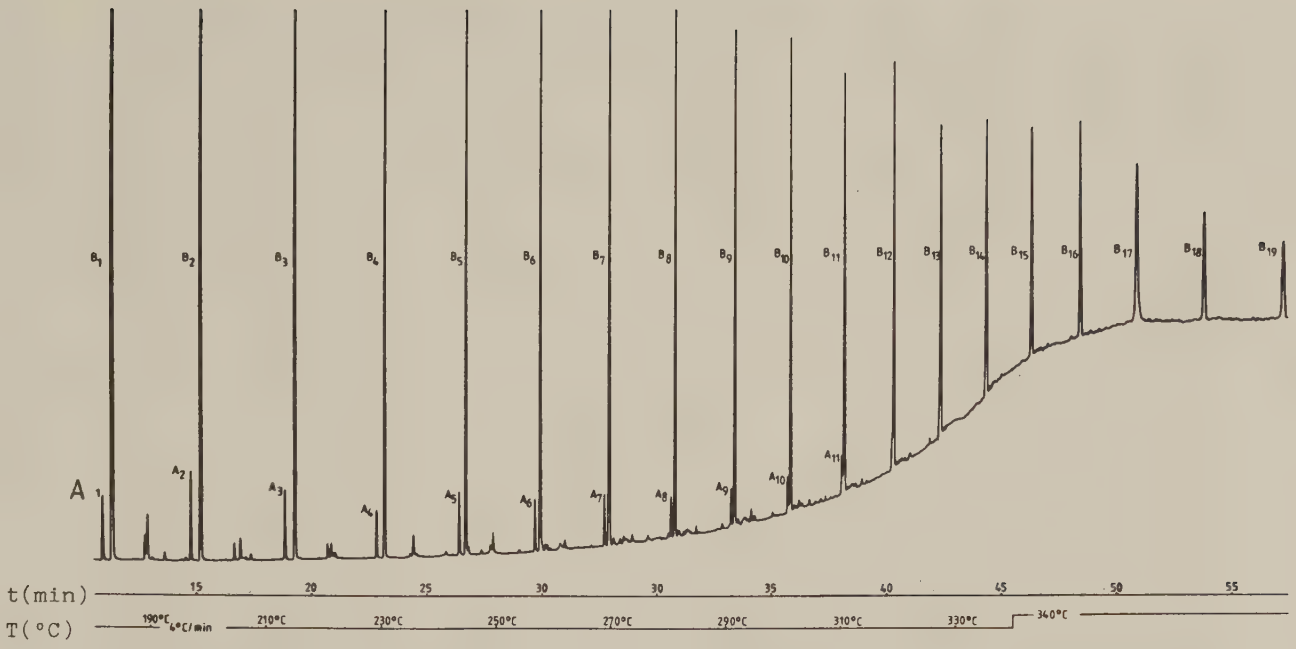


Fig.43: Produkte (Ausschnitt aus dem GC) der Äquilibrierung von α,ω -Dibuttersäure-tetramethyldisiloxan mit Oktamethylcyclotetrasiloxan im molaren Verhältnis 1:2. Die Carboxygruppen sind mit Diazomethan verestert.
Säule: Durabond 30 N (30 m Quarzkapillare)
p_i = 0,7 kg/cm² H_2; T = 150/3/4/340°C; Inj.T. = 400°C

In Fig.43 wird der Trägergasdruck auf 0,7 kg/cm² und das Temperaturprogramm auf 340°C erhöht. Durch Einstellen dieser Grenzwerte sollte ein größerer Überblick über die Produktverteilung möglich werden. Die Bestimmung der Molekularmasse des letzten noch getrennten Siloxans müßte einen Wert um 2000 ergeben. Da über die gaschromatographische Trennung so großer Moleküle mit funktionellen Gruppen noch nicht berichtet wurde, erschien die Ermittlung der größten Molekularmasse (auch in Hinblick auf die Strukturaufklärung von Chirasil-Val) wünschenswert.
Man erhält in Fig.42 und Fig.43, wie bei der Darstellung von Polydimethylsiloxy-$\overline{3,4}$- α,ω -dibuttersäure, zwei homologe Reihen der Form:

<u>für Fig.42:</u>

$A_1 - A_9$; $H_3COOC-CH_2-CH(CH_3)-Si(CH_3)_2-O-[Si(CH_3)_2-O]_n-Si(CH_3)_2-(CH_2)_3-COOCH_3$ mit $n = 1(A_1) - 9(A_9)$

$B_1 - B_{13}$; $H_3COOC-(CH_2)_3-Si(CH_3)_2-O-[Si(CH_3)_2-O]_n-Si(CH_3)_2-(CH_2)_3-COOCH_3$ mit $n = 1(B_1) - 13(B_{13})$

<u>für Fig.43:</u>

$A_1 - A_{11}$; mit $n = 1(A_1) - 11(A_{11})$

$B_1 - B_{20}$; mit $n = 1(B_1) - 20(B_{20})$

Für B_{20} ergibt sich die Molekularmasse zu 1680.

Die Berechnung der Funktionen f(x) erfolgt in Fig.42 ohne das erste Wertepaar, in Fig.43 ohne die ersten beiden Paare. Bei Berücksichtigung dieser Werte würde man sonst Funktionen erhalten, für die r^2 nicht ausreichend groß genug wäre. Man erhält für die ersten fünf Wertepaare in Fig.43

$$f(x) = 23{,}55\ e^{-0{,}29x} \qquad \text{mit} \quad r^2 = 0{,}81,$$

dagegen für die Berechnung des dritten bis neunten Wertepaares

$$f(x) = 8{,}586\ e^{-0{,}087x} \qquad \text{mit} \quad r^2 = 0{,}994.$$

Die Abweichung des ersten Wertepaares bzw. die Konzentration der Ausgangsverbindung von der Funktion f(x) kann somit als Maß für die Güte der Äquilibrierung angesehen werden.
Für die Äquilibrierung nach Schnurrbusch erhält man eine stärker fallende Funktion

$$f(x) = 30{,}36\ e^{-0{,}1832x} \qquad \text{mit } r^2 = 0{,}99.$$

Dieses ist wegen des Verlustes von flüchtigem Dichlordimethylsilan auch zu erwarten. Da bei der Äquilibrierung mit Oktamethylcyclotetrasiloxan keine flüchtigen Produkte entweichen, muß der aus dem Integral

$$\int_2^u f(x)\,dx = \frac{F_2^\infty}{2}$$

berechnete Wert für u mit dem Verhältnis der Edukte übereinstimmen. Letztere werden so eingewogen, daß im Mittel Moleküle mit 10 Siliziumatomen entstehen sollen. Die Berechnung von u ergibt:

$$u = -\frac{\ln\left[\frac{F_2^\infty\ b}{2\ a}\right]}{b} = 9{,}97$$

Die gute Übereinstimmung belegt, daß mit der Funktion f(x) die Beschreibung der Äquilibrierungsprodukte sehr genau erfolgt.

Die Kupplung von Polydimethylsiloxy-$\overline{7,0}$-α,ω-dibuttersäure und L-Val-t-butylamid erfolgt wiederum mit CDI. Die Kapillare wird anschließend 24 h lang bei 220°C konditioniert. Das Chromatogramm dieser Phase ist in Fig.44 festgehalten.

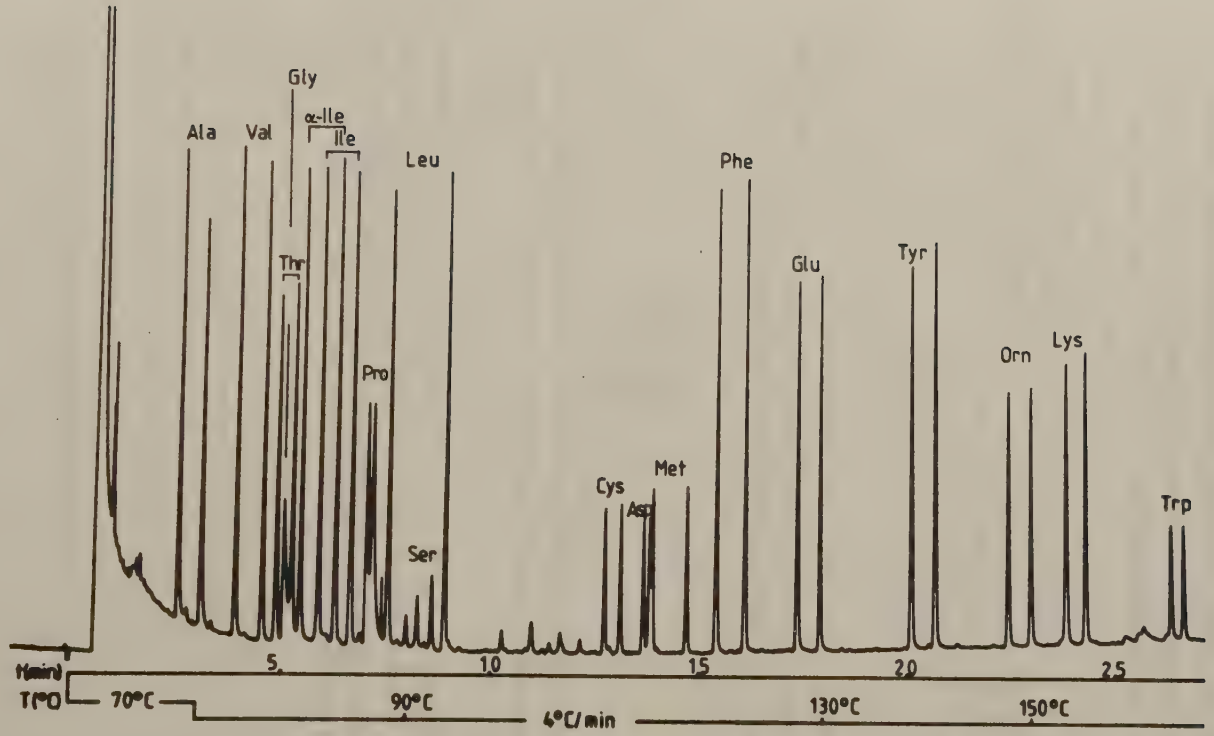


Fig.44: Enantiomerentrennung von Aminosäuren an einer Phase, die durch Kupplung von L-Val-t-butylamid mit Polydimethylsiloxy-$\overline{7,0}$- α,ω -dibuttersäure erhalten worden ist

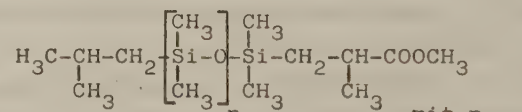
Derivate: PFP/n-Propylester; p_i = 0,4 kg/cm² H_2; T = 70/3/4/200°C

Die stationäre Phase zeichnet sich durch erstaunlich hohe Trennfaktoren aus. Die leichterflüchtigen Aminosäurederivate eluieren früher als bei Chirasil-Val und werden dennoch sehr gut getrennt. Erfreulich ist ebenfalls, daß die Kapillare kein Bluten zeigt, obwohl eine recht niedermolekulare Phase vorliegt. Das für die Polarität der Phase richtige Verhältnis von funktionellen Gruppen zu Kettenlänge ist gewährleistet. Man findet keine Überlappung von Peaks, d.h. die Phase kann für die Aminosäuretrennung als optimiert betrachtet werden. In der Folgezeit muß noch geklärt werden, ob sich die Polarität der Phase auch über einen längeren Zeitraum nicht ändert. Sollte dies der Fall sein, könnte die Phase analog zu Chirasil-Val eingesetzt werden. Würde über einen längeren Zeitraum dennoch eine Verschlechterung zu beobachten sein, müßte die Phase durch Quervernetzung stabilisiert werden. Das könnte z.B. durch zusätzliche Äquilibrierung mit Trichlormethylsilan oder durch zusätzliche Äquilibrierung mit Dichlormethylvinylsilan und anschließende Belegung mit Dicumylperoxid erfolgen. Die damit verbundenen Fragen (Wahl der Äquilibrierung, Grad der Quervernetzung, resultierende Polarität der Phase, usw.) müssen allerdings noch erst untersucht werden.

Alle bisher in diesem Kapitel dargestellten Phasen hatten ihren Ursprung in der Darstellung von α,ω -Dibuttersäuretetramethyldisiloxan. Bei der Chirasil-Val-Synthese erfolgt die Hydrosilylierung jedoch in der Regel mit Methacrylsäuremethylester und nicht mit Allylcyanid.
Im Verlauf des analog durchgeführten Syntheseweges mit Methacrylsäuremethylester ergeben sich allerdings abweichende Resultate. Bereits bei der Darstellung von α,ω -Diisobuttersäuremethylester-tetramethyldisiloxan fällt auf, daß lediglich das "Anti-Markownikow-Produkt" gebildet wird. Die vollständige Verseifung des Methylesters (Rückflußkochen in NaOH/MeOH) dauert drei Tage (wie bei Chirasil-Val) und wird durch Veresterung der Carboxygruppe mit MSTFA gaschromatographisch kontrolliert. Es zeigt sich, daß zum Zeitpunkt der

vollständigen Verseifung nur noch ca. 40 % des eingesetzten Dimers vorliegen. Die restlichen 60 % findet man in Form der nächst höheren Homologe (α,ω -Diisobuttersäure-hexamethyltrisiloxan usw.) wieder. Die bereits bei der Verseifung mit NaOH einsetzende Äquilibrierung kann nur durch Bruch der Siloxanbindung sowie der endständigen Si-C Bindung erklärt werden. Das entstandene Gemisch wird anschließend mit Oktamethylcyclotetrasiloxan äquilibriert. Bei der Darstellung von Polydimethylsiloxy-$\overline{10}$-α,ω-diisobuttersäure erhält man das in Fig.45 dargestellte Chromatogramm.

In diesem Chromatogramm fällt der erstaunlich hohe Anteil cyclischer Siloxane ohne funktionelle Gruppen auf. Man erhält für D_x mit x = 4 - 20 eine monoton fallende Reihe, wie durch die Theorie von Jacobson und Stockmayer vorhergesagt wird. Man erkennt, daß neben den homologen Reihen

$C_1 - C_{21}$;  mit n = 1(C_1)-21(C_{21}

und

$D_4 - D_{20}$; (D steht wieder für Dimethylsiloxy, d.h. D_4 = Oktamethylcyclotetrasiloxan usw.)

noch andere homologe Reihen gebildet werden, deren Intensität für eine Identifizierung durch GC/MS-Kopplung jedoch nicht ausreicht.

Sollten sich bei der Darstellung der Chirasil-Val-Copolymere ebenfalls Ringe ohne funktionelle Gruppe bilden, würde dies mit das stärkere Bluten der Kapillare erklären (falls die Phase nicht gelpermeationschromatographisch gereinigt wurde). Beim Reinigungsschritt werden nämlich die kleineren und flüchtigeren Ringe von der Phase abgetrennt.

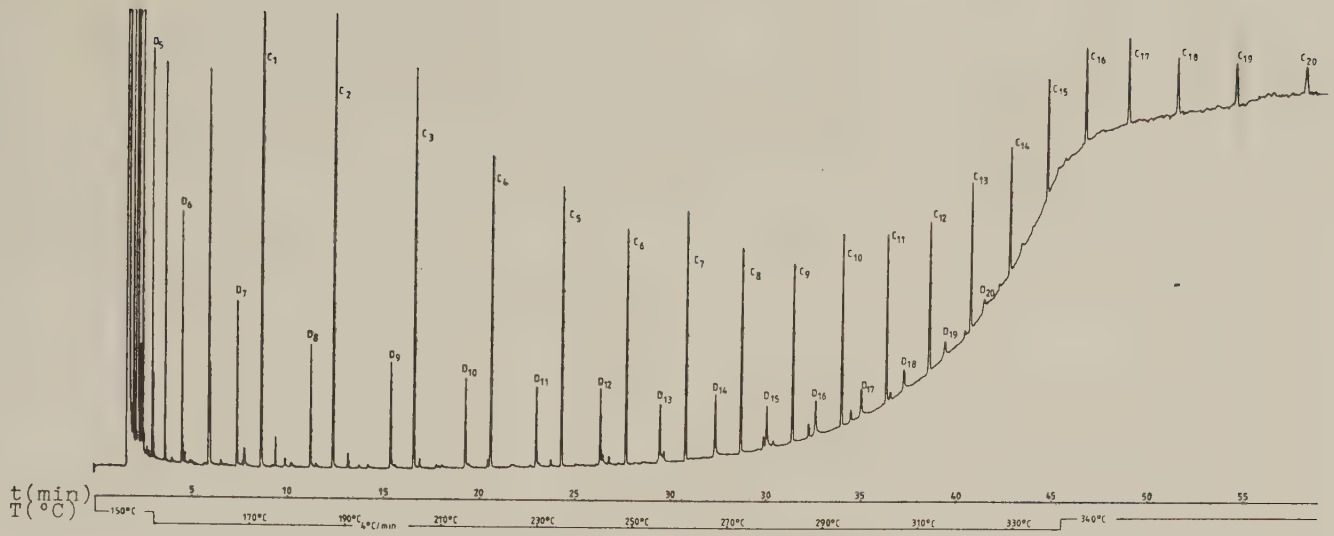


Fig.45: GC von Polydimethylsiloxy-$\overline{10}$- α,ω-diisobuttersäure (die Carboxygruppen sind mit Diazomethan verestert)

Säule: Durabond 30 N (30 m Quarzkapillare)

p_i = 0,7 kg/cm² H_2; T = 150/3/4/340°C; Inj.T. = 400°C

5. Strukturaufklärung von Chirasil-Val

Wie die Vorversuche gezeigt haben, ist es ohne weiteres möglich, Silikonmoleküle mit einer Molekularmasse um 2000 gaschromatographisch zu erfassen. Die für die Chirasil-Val-Synthese dargestellten Copolymere besitzen angeblich eine mittlere Molekularmasse um 5000 und wären somit gaschromatographisch nicht zu analysieren. Die Syntheseergebnisse von Polydimethylsiloxy-$\overline{x}$- α,ω -dibuttersäure (mit $\overline{x}$ = 3,4; 7; 10) machen allerdings deutlich, daß Erhöhung des mittleren Molekulargewichtes lediglich ein schwächeres Abfallen der Verteilungsfunktion f(x) (b wird kleiner) zur Folge hat (vgl. Fig.46).

Das bedeutet, daß bei der Darstellung eines Copolymers für die Chirasil-Val-Synthese mit einer mittleren Molekularmasse von 1000 oder 2000 die gleichen Produkte wie bei der Synthese eines Copolymers mit einer mittleren Molekularmasse von 5000 entstehen. Größere Moleküle werden beim Copolymer $\overline{5000}$ lediglich in einer höheren Konzentration vorkommen. Durch Bestimmung der Produkte als auch der Funktionen f(x) für die Copolymere $\overline{1000}$ bzw. $\overline{2000}$ ist die Zusammensetzung des Copolymers $\overline{5000}$ durch Extrapolation zugänglich.

Ein Copolymer MM 1:5 $\overline{1000}$ wird nach der Schnurrbusch-Methode äquilibriert, die Carboxygruppen mit Diazomethan verestert und anschließend an einer SE-52 Quarzkapillare untersucht. Fig.47 zeigt das dabei erhaltene Chromatogramm.

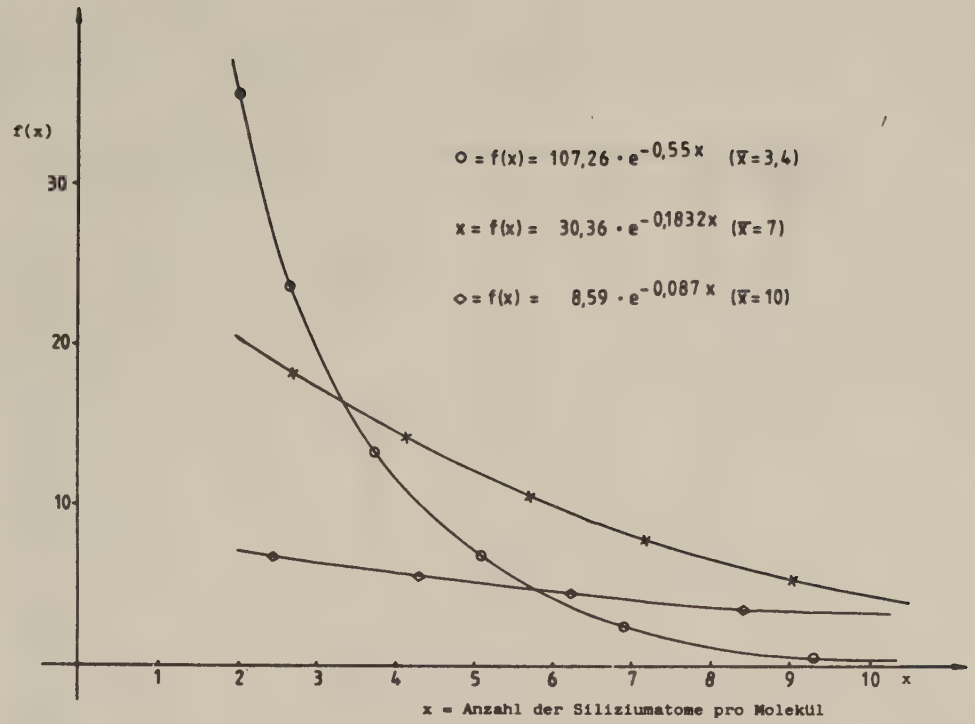


Fig.46: f(x) für die Darstellung von Polydimethylsiloxy-$\bar{x}$- α,ω -dibuttersäure (mit $\bar{x}$ = 3,4; 7; 10)

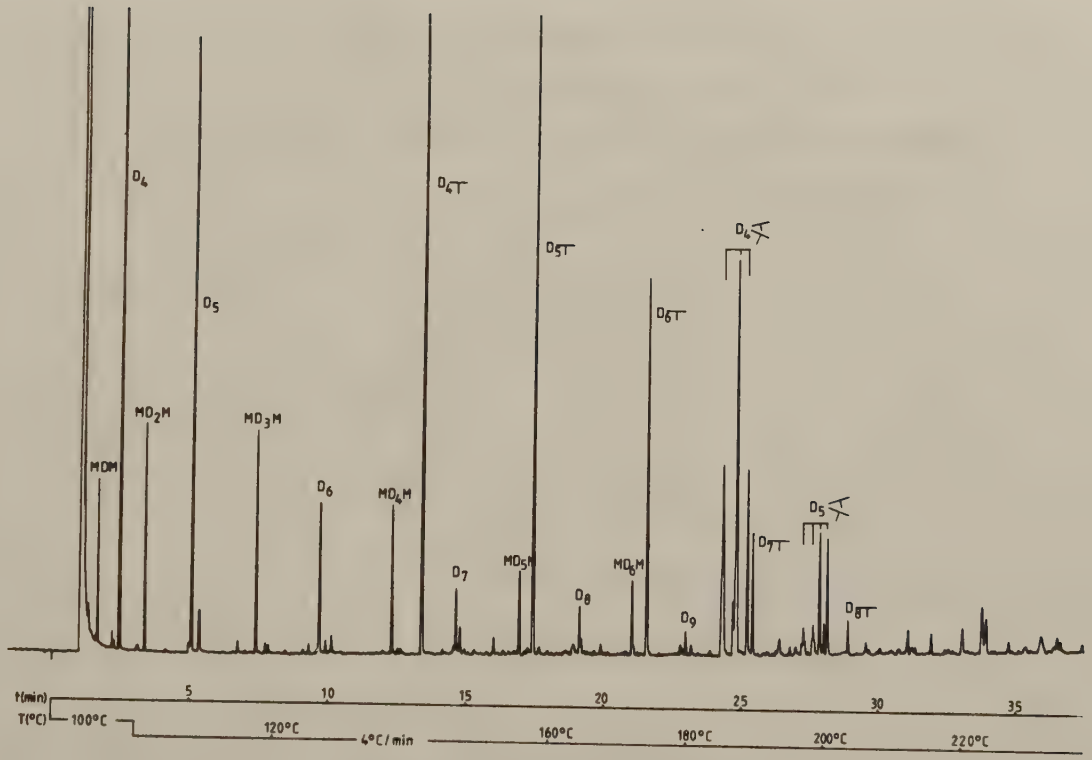
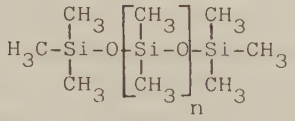


Fig.47: GC der Produkte eines Copolymers MM 1:5 $\overline{1000}$ (die Carboxygruppen sind mit Diazomethan verestert); Säule: SE-52 (25 m Quarzkapillare)
p_i = 0,5 kg/cm² H_2; T = 100/3/4/300°C; Inj.T. = 360°C

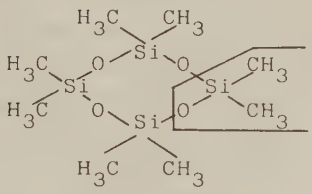
Durch GC/MS-Kopplung werden die Produkte wie folgt identifiziert:

a) MD_xM:



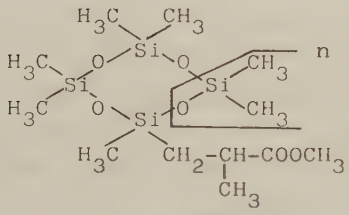
mit n = 1(MDM) - 8(MD_8M)

b) D_x :



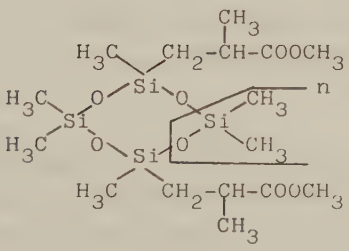
mit n = 1(D_4) - 9(D_9)

c) $D_x\top$:



mit n = 1($D_4\top$)-5($D_8\top$)

d) $D_x\overset{\top}{\diagup}$:



mit n = 1($D_4\overset{\top}{\diagup}$)-2($D_5\overset{\top}{\diagup}$)

($\top$ = $-CH_2-\underset{CH_3}{CH}-COOCH_3$)

Es werden dabei für den disubstituierten Vier- bzw. Fünfring sämtliche Konstitutionsisomere nachgewiesen.

Übersichtlicher wird es, wenn man in einer Graphik die unkorrigierten Ausbeuten gegen das Molekulargewicht aufträgt. Das ist in Fig.48 geschehen.

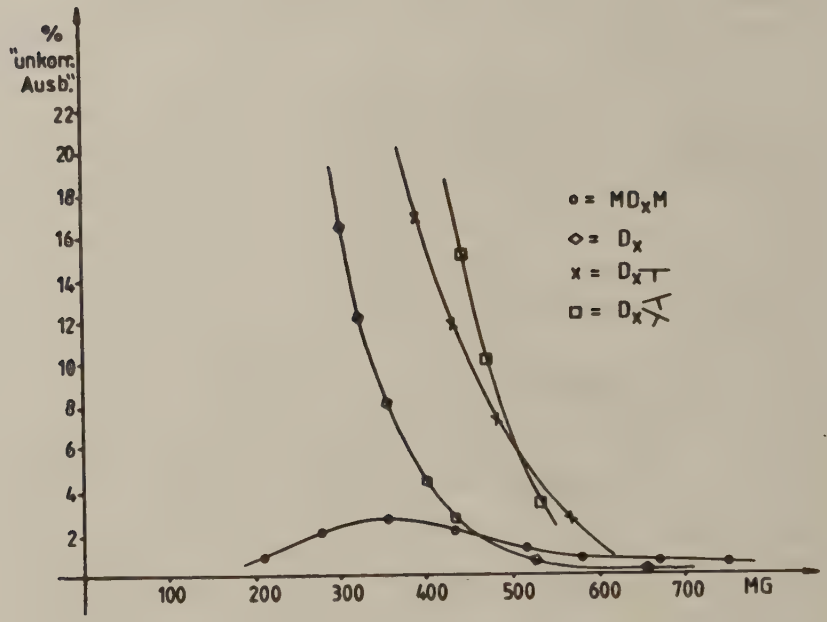


Fig.48: Produktverteilung eines Copolymers MM 1:5 $\overline{1000}$ (die Molekularmassen beziehen sich für Verbindungen mit funktionellen Gruppen jeweils auf die freien Carbonsäuren)

Der typische Kurvenverlauf für Ketten (Gaussverteilung) und Cyclen (monoton fallend) deutet auf ein vollständig äquilibriertes System hin (vgl. mit der Theorie von Jacobson und Stockmayer). Die Einstellung einer mittleren Molekularmasse von 1000 wird nicht realisiert, sondern liegt, wie aus Fig.48 ersichtlich ist, bedeutend tiefer. Ca. 90 % aller bestimmten Produkte sind Cyclen. Lineare Moleküle mit funktionellen Gruppen findet man fast nicht. Lediglich die Verbindung Buttersäure-nonamethyltetrasiloxan (MD$_2$T M) wird nachgewiesen; es handelt sich hierbei wahrscheinlich um das Maximum der Gaussverteilung für die entsprechende homologe Reihe. Der hohe Anteil cyclischer Verbindungen überrascht, da der eigentliche Äquilibrierungsschritt ohne Lösungsmittel

durchgeführt wird. Wahrscheinlich kommt die Ringbildung durch eine vorgelagerte Äquilibrierung in Methanol (Verseifung des Methylesters) als auch durch eine nachträgliche Äquilibrierung in Methylenchlorid zustande. Um den Äquilibrierungskatalysator durch Extraktion zu entfernen, wird das Copolymer in Methylenchlorid aufgenommen und unter Rückfluß erhitzt. Während dieser Zeit ist eine Umäquilibrierung vorstellbar. Dies würde auch die heterogene Katalyse (Verwendung von "sulfuric acid treated Fuller's earth") anderer Arbeitsgruppen (84) erklären, die lösungsmittelfrei äquilibrieren.
Der recht hohe Anteil der Reihe D_xT und das Vorhandensein sämtlicher Konstitutionsisomere der Reihe D_x deutet darauf hin, daß es zu keiner Blockbildung

-Si-O-Si-O-Si-O-Si- (z.B. aufgrund sterischer Einflüsse)

im Copolymer kommt! Das für die Trennung wichtige Verhältnis x:y (1:5 eingewogen) gilt zwar für das gesamte System, ist aber wegen der Existenz von MD_xM und D_x im Mittel für alle Moleküle mit funktionellen Gruppen erheblich kleiner!

Die Synthese und Analyse eines Copolymers MM 1:5 mit einer mittleren Molekularmasse von 2000 bestätigt die zu Beginn des Kapitels geäußerten Vermutungen. Es werden dieselben Produkte gebildet, man findet lediglich höhere Konzentrationen für größere Moleküle. Desweiteren ändern sich auch die Konzentrationen der homologen Reihen untereinander. Fig.49 gibt die Produktverteilung eines Copolymers MM 1:5 $\overline{2000}$ wieder.

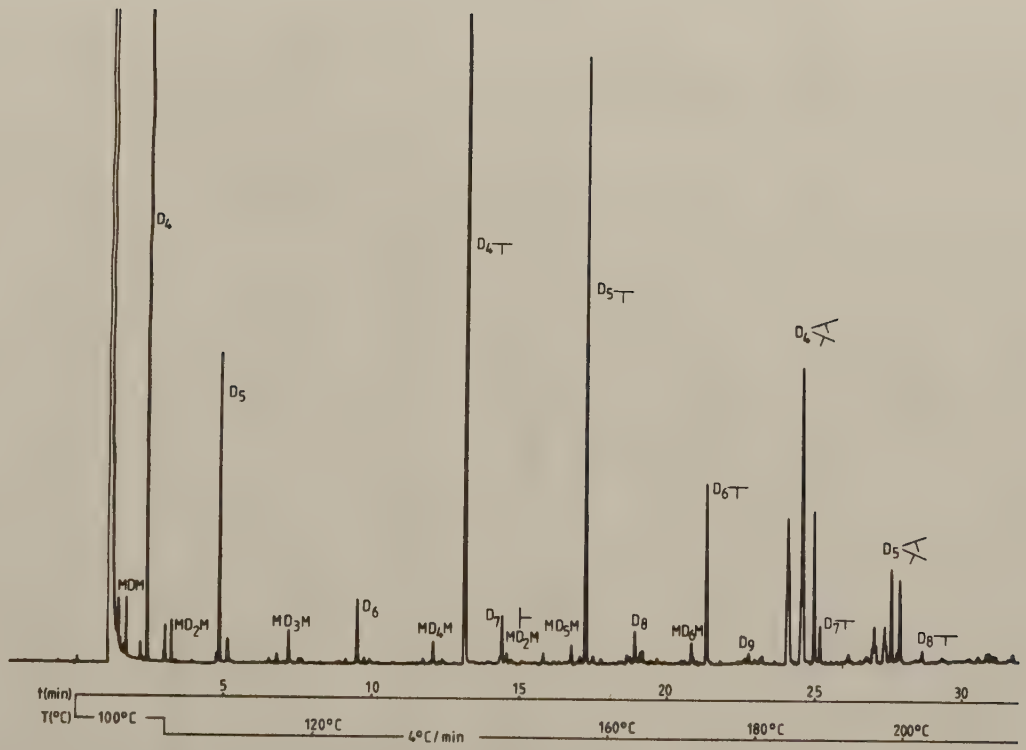


Fig.49: Produktverteilung eines Copolymers MM 1:5 $\overline{2000}$ (die Carboxygruppen sind mit Diazomethan verestert) Säule: SE-52 (25 m Quarzkapillare)

p_i = 0,55 kg/cm² H_2; T = 100/3/4/320°C; Inj.T. = 370°C

Um die Änderung der einzelnen homologen Reihen beim Übergang vom Copolymer $\overline{1000}$ zum Copolymer $\overline{2000}$ graphisch besser darzustellen, werden die Funktionen f(x) berechnet. Die Berechnung beschränkt sich auf die Reihen D_x und $D_{x\top}$, da MD_xM durch eine Gaussverteilung beschrieben wird und für $D_{\diagup x\diagdown}$ in beiden Fällen nur jeweils zwei Wertepaare zur Verfügung stehen. Die erhaltenen Funktionen f(x) sind in Tabelle 3 aufgelistet und in Fig.50 graphisch dargestellt.

Tabelle 3: f(x) der Reihen D_x und $D_{x\top}$ für die Copolymere $\overline{1000}$ und $\overline{2000}$

	$\overline{MG}$ = 1000	$\overline{MG}$ = 2000
D_x	$f(x)=352,25e^{-0,8x}$ (r^2 = 0,97)	$f(x)=161,35e^{-0,71x}$ (r^2 = 0,95)
$D_{x\top}$	$f(x)=522,5e^{-0,79x}$ (r^2 = 0,97)	$f(x)=5516,48e^{-1,26x}$ (r^2 = 0,99)

Es kann zu Recht angenommen werden, daß die Chromatogramme in Fig.47 und 49 nur einen Teil der Verbindungen zeigen, die bei der Äquilibrierung entstehen. Es wird neben den Reihen $D_{x\top}$ und $D_{\diagup x\diagdown}$ auch zur Bildung von trisubstituierten, tetrasubstituierten und mehrfachsubstituierten Cyclen kommen. Für diese Reihen wird man ebenfalls monoton fallende Funktionen f(x) erhalten, wobei das Integral der trisubstituierten Cyclen kleiner sein wird als das der disubstituierten bzw. das der tetrasubstituierten kleiner als das der trisubstituierten usw. Die Tatsache, daß für immer größer werdende Ringe mit mehreren Substituenten (Buttersäureresten) eine größer werdende Anzahl von Konstitutionsisomeren entsteht, erklärt, weshalb ab einer bestimmten Grenze keine Produkte, sondern nur noch kontinuierliches Ansteigen der Nullinie beobachtet wird. Wie groß der Anteil der analysierten Produkte am Gesamtcopolymer ist, kann durch Direkteinspritzung der Probe ermittelt werden. Zu diesem Zweck wird durch Coinjektion definierter Mengen D_4 und Hexadecan der Response-Faktor für D_4 bestimmt.

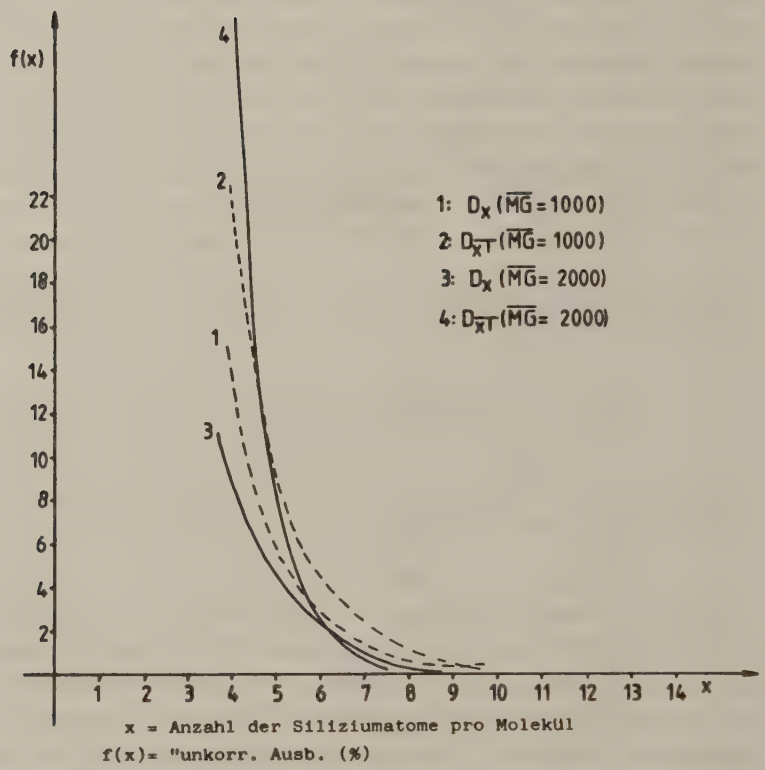


Fig.50: f(x) der Reihen D_x und $D_{\overline{x}\overline{1}}$ für Copolymer $\overline{1000}$=-----
f(x) der Reihen D_x und $D_{\overline{x}\overline{1}}$ für Copolymer $\overline{2000}$=———

Der Fehler, der sich für Siloxane mit funktioneller Gruppe ergibt, wird vernachlässigt. In diesem Fall muß der erhaltene Wert als Maximalwert angesehen werden, der genaue Wert wird leicht darunter liegen. Das Ergebnis dieser Messungen besagt, daß sich der Anteil der beobachteten Produkte für Copolymer $\overline{1000}$ sowie Copolymer $\overline{2000}$ zu ca. 25 % ergibt. Bei großer Integratorempfindlichkeit erhält man dagegen in beiden Fällen Werte über 30 %. Diese unterschiedlichen Ergebnisse verdeutlichen die Problematik

dieser Messungen. Bei normaler Peakerkennung werden sehr kleine Peaks nicht erkannt, bei übergroßer Empfindlichkeit läßt sich die Integration des Untergrundrauschens nicht vermeiden.
Um dennoch eine quantitative Abschätzung vornehmen zu können, bietet sich mit der Thermogravimetrie eine zweite Möglichkeit zur Charakterisierung der Copolymere an. Eine thermogravimetrische Messung kann die Verteilung der Produkte über einen größeren Temperaturbereich hinweg sichtbar machen. Eine solche Messung ist für das Copolymer MM 1:5 $\overline{2000}$ durchgeführt und das Ergebnis in Fig.51 festgehalten.

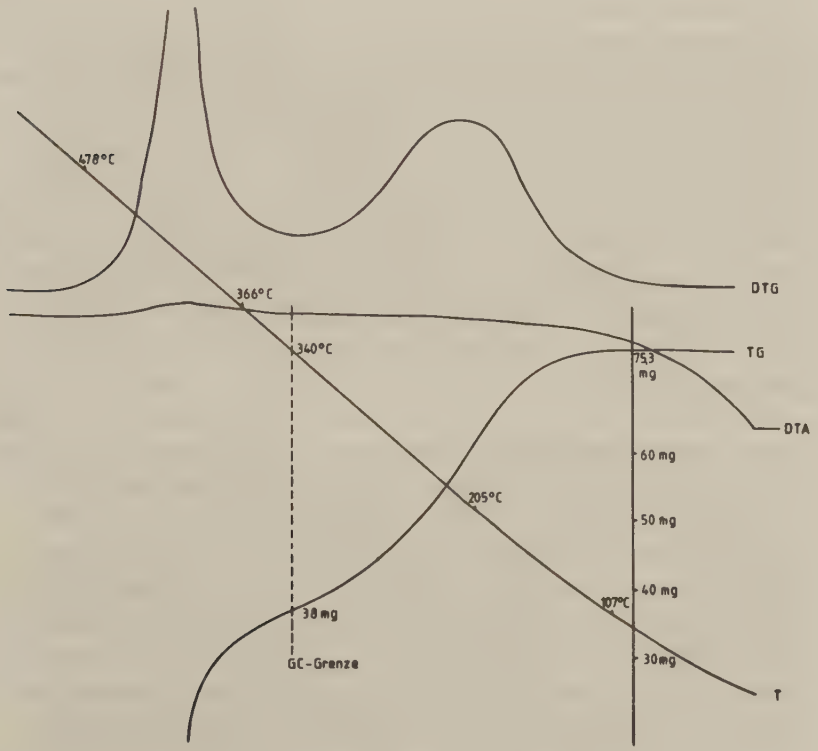


Fig.51: Thermogravimetrie des Copolymers MM 1:5 $\overline{2000}$
(die Carboxygruppen sind mit Diazomethan verestert)

Es werden 75,3 mg Copolymer MM 1:5 $\overline{2000}$ eingewogen und unter Stickstoff mit einer Aufheizrate von 2°C/Minute bis 500°C erhitzt. Die Gewichtsabnahme mit steigender Temperatur wird durch die TG-Kurve beschrieben, die DTG-Kurve stellt deren erste Ableitung dar. Das Abziehen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer hat ebenfalls die Entfernung kleiner flüchtiger Siloxane zur Folge. Entsprechend findet man bis ca. 100°C keinen Gewichtsverlust. Ab 107°C setzt eine kontinuierliche Gewichtsabnahme ein, die ab 370°C intensiver wird. Das stärkere Abfallen der TG-Kurve ab 370°C erklärt sich durch einsetzende Depolymerisation der Moleküle. Das Maximum in der DTA-Kurve belegt, daß diese Depolymerisation exotherm verläuft. Bei 340°C (GC-Endtemperatur) liegen noch 38 mg des eingesetzten Copolymers vor. Berücksichtigt man nachträglich das Fehlen kleiner flüchtiger Moleküle (D_4, D_5, MDM usw.), ergibt sich der im GC beobachtete Anteil zu über 50 %.

Das Ergebnis von GC und Thermogravimetrie steht in Einklang mit der Postulierung homologer cyclischer Siloxanreihen für die Chirasil-Val-Copolymere. Man erhält im wesentlichen für ein bestimmtes Copolymer einen definierten"Satz" cyclischer Siloxanreihen. Dabei verlaufen sowohl die einzelnen Siloxanreihen als auch die Summe aller Reihen nach monoton fallenden Funktionen f(x). Für die Abstände der funktionellen Gruppen ist die Berücksichtigung der Ringbildung wichtig. Da die freie Drehbarkeit aufgehoben ist, werden für bestimmte Abstände Konstitutionsisomere gebildet. Desweiteren kann gezeigt werden, daß der Anteil bestimmter Abstände vom Substituent abhängt. So existieren für D_5 vier Konstitutionsisomere, von denen zwei bevorzugt gebildet werden (vgl. Fig.47 und 49). Aufgrund der sterischen Hinderung der Isobuttersäurereste scheint die Bildung von Isomeren mit direkt benachbarten Resten benachteiligt. Dieser Effekt wird bei n-Buttersäureresten nicht mehr beobachtet. Bei der Darstellung von Dibuttersäureoctamethylcyclopentasiloxan werden alle vier Isomere zu gleichen Teilen gebildet.

6. Analytik der in II.4. und 5. dargestellten Siloxane

Die Auswertung der IR-und ^{1}H-NMR-Spektren wird analog Kapitel I.8. vorgenommen. Durch die Reinigungsmöglichkeit des Ausgangsproduktes (Destillation von α,ω -Dibutyronitril-tetramethyldisiloxan) erhöht sich die Aussagekraft der entsprechenden Spektren sowie der Folgeprodukte, da eventuelle Verunreinigungen aus den beiden ersten Stufen nicht mitgeschleppt werden. In Fig.52-54 sind die IR-Spektren von α,ω -Dibutyronitril-tetramethyldisiloxan (Fig.52), Polydimethylsiloxy-$\overline{7,0}$- α,ω -dibuttersäure (Fig.53) und der entsprechenden stationären Phase (Fig.54) wiedergegeben.

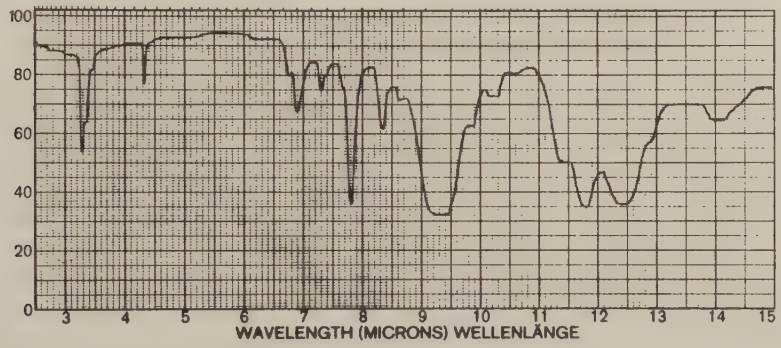


Fig.52: IR-Spektrum von α,ω -Dibutyronitril-tetramethyldisiloxan

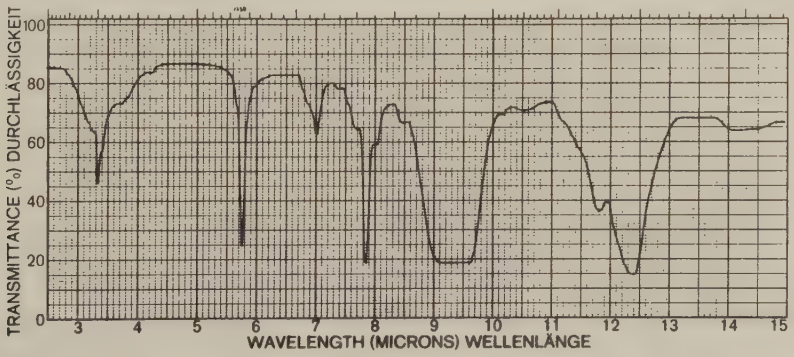


Fig.53: IR-Spektrum von Polydimethylsiloxy-$\overline{7,0}$-α,ω -dibuttersäure

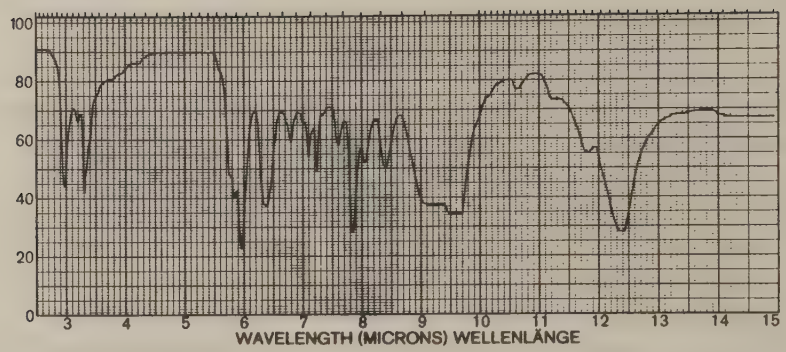


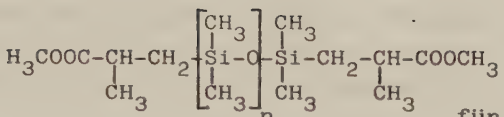
Fig.54: IR-Spektrum der stationären Phase, die durch Kupplung von Polydimethylsiloxy-$\overline{7,0}$-α,ω-dibuttersäure mit L-Val-t-butylamid entstanden ist (Kupplungsreagenz war CDI)

Die Verseifung von Nitril-und Estergruppen wird gaschromatographisch kontrolliert. Die Zuordnung der Verseifungsprodukte als auch der Äquilibrierungsprodukte erfolgt durch GC/MS-Kopplung. Auf die so gewonnen Massenspektren soll im folgenden näher eingegangen werden. Wegen der Temperaturgrenze von 290°C und der eingeschränkten Genauigkeit für Moleküle mit Molekularmassen über 1000 können lediglich die ersten Glieder folgender homologer Siloxanreihen aufgenommen werden:

1) $H_3COOC-(CH_2)_3-\left[\begin{matrix}CH_3\\|\\Si-O\\|\\CH_3\end{matrix}\right]_n\begin{matrix}CH_3\\|\\Si-(CH_2)_3-COOCH_3\\|\\CH_3\end{matrix}$ für n = 1 - 7

2) $H_3COOC-CH_2-CH-\left[\begin{matrix}CH_3\\|\\Si-O\\|\\CH_3\end{matrix}\right]_n\begin{matrix}CH_3\\|\\Si-(CH_2)_3-COOCH_3\\|\\CH_3\end{matrix}$ für n = 1 - 7

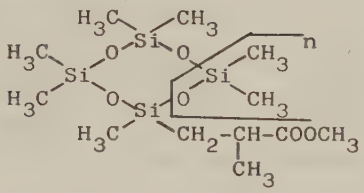
(Man findet für diese Reihe die gleichen Spektren wie für die lineare Reihe 1))

3) 

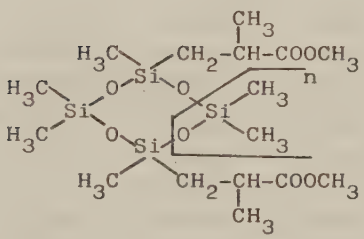
für n = 1 - 5

4) $D_4 - D_9$

5) MDM - MD_7M

6) 

für n = 1 - 5

7) 

für n = 1 - 2

Am Beispiel der ersten Reihe soll die Interpretation der Massenspektren erläutert werden. Die anderen Reihen werden analog interpretiert.

Auf Grund der natürlich vorkommenden Siliziumisotope

$$^{28}_{14}Si = 92{,}21\ \%$$
$$^{29}_{14}Si = 4{,}70\ \%$$
$$^{30}_{14}Si = 3{,}09\ \%$$

und des hohen Kohlenstoffanteils ($^{13}_{12}C = 1{,}11\ \%$) erhält man für jedes Molekül ein charakteristisches Isotopenmuster für M^+ und Fragmentpeaks. Die Berechnung der einzelnen Isotopenkombinationen wird mit einem Computerprogramm durchgeführt. Die Ergebnisse für die ersten 7 Moleküle (n=1-7) der ersten

Reihe $C_{12}H_{24}O_4Si(C_2H_6SiO)_n$ sind in Tabelle 4 aufgelistet. Isotopenkombinationen mit einem Verhältnis unter 1 % werden zwar für die Rechnung berücksichtigt, aber nicht extra ausgedruckt.

Tabelle 4: Isotopenkombinationen der Reihe $C_{12}H_{24}O_4Si(C_2H_6SiO)_n$ für n = 1 - 7

n = 1: $C_{14}H_{30}O_5Si_2$	Masse	abs.%	rel.%
	334	72,726	100,00
	335	18,842	25,91
	336	7,062	9,71
	337	1,167	1,60
	Summe abs.% =	99,7966	

n = 2: $C_{16}H_{36}O_6Si_3$	Masse	abs.%	rel.%
	408	65,580	100,00
	409	21,806	33,25
	410	9,896	15,09
	411	2,160	3,29
	Summe abs.% =	99,4424	

n = 3: $C_{18}H_{42}O_7Si_4$	Masse	abs.%	rel.%
	482	59,136	100,00
	483	24,005	40,59
	484	12,425	21,01
	485	3,332	5,63
	486	0,899	1,52
	Summe abs.% =	99,7969	

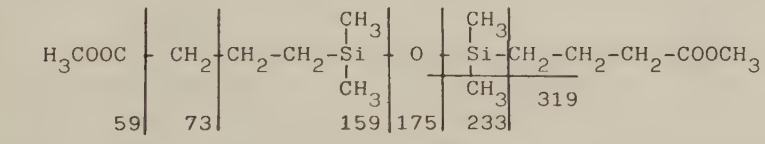
n = 4: $C_{20}H_{48}O_8Si_5$	Masse	abs.%	rel.%
	556	53,326	100,00
	557	25,561	47,93
	558	14,648	27,47
	559	4,620	8,66
	560	1,438	2,70
	Summe abs.% =	99,5932	

n = 5: $C_{22}H_{54}O_9Si_6$	Masse	abs.%	rel.%
	630	48,086	100,00
	631	26,580	55,28
	632	16,573	34,47
	633	5,974	12,42
	634	2,079	4,32
	635	0,544	1,13
	Summe abs.% =	99,8374	

n = 6: $C_{24}H_{60}O_{10}Si_7$	Masse	abs.%	rel.%
	704	43,361	100,00
	705	27,152	62,62
	706	18,213	42,00
	707	7,351	16,95
	708	2,809	6,48
	709	0,827	1,91
	Summe abs.% =	99,7132	

n = 7: $C_{26}H_{66}O_{11}Si_8$	Masse	abs.%	rel.%
	778	39,101	100,00
	779	27,355	69,96
	780	19,581	50,08
	781	8,716	22,29
	782	3,610	9,23
	783	1,175	3,00
	Summe abs.% =	99,5368	

Allen Siloxanmolekülen gemeinsam ist das Fehlen von M^+ und das ausgeprägte Vorhandensein von $M^+ - 15$ (Abspaltung einer Methylgruppe vom Silizium). Im folgenden Schema sind die für α,ω -Dibuttersäuremethylester-tetramethyldisiloxan charakteristischen Fragmentierungen eingezeichnet. Für die nächsten Glieder findet man die entsprechenden Fragmente einschließlich der um 74 Masseneinheiten (Dimethylsiloxy-einheit) nach oben verschobenen Werte.



	m/e	M^+-15
n=1:	59, 73, 159, 233 +74	319
n=2:	59, 73, 159, 233, 307 +74	393
n=3:	59, 73, 159, 233, 307, 381 +74	467
n=4:	59, 73, 159, 233, 307, 381, 455 +74	541
n=5:	59, 73, 159, 233, 307, 381, 455, 529 +74	615
n=6:	59, 73, 159, 233, 307, 381, 455, 529, 603 +74	689
n=7:	59, 73, 159, 233, 307, 381, 455, 529, 603, 677	763

Die Massenspektren in Fig.55a-g belegen sowohl die berechneten Isotopenverteilungen als auch die beschriebenen Fragmentierungen.

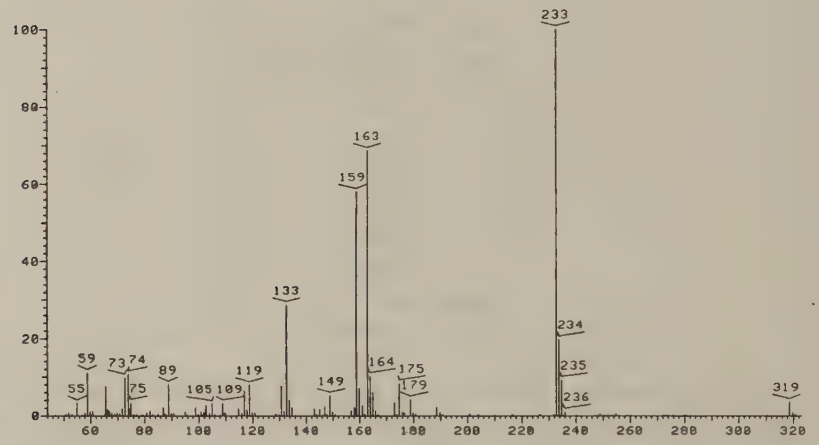


Fig.55a: Massenspektrum von
α,ω -Dibuttersäuremethylester-tetramethyldisiloxan

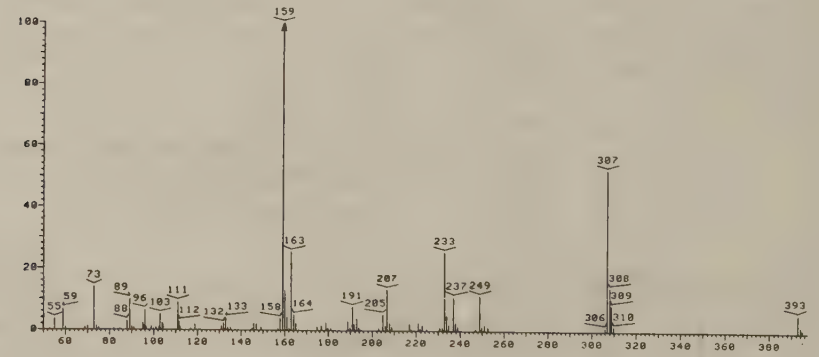


Fig.55b: Massenspektrum von
α,ω -Dibuttersäuremethylester-hexamethyltrisiloxan

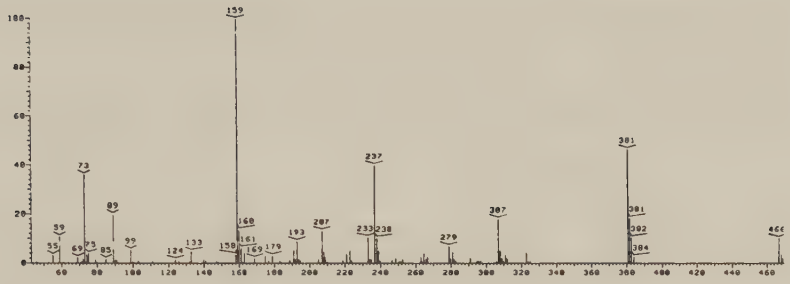


Fig.55c: Massenspektrum von
α, ω -Dibuttersäuremethylester-octamethyl-tetrasiloxan

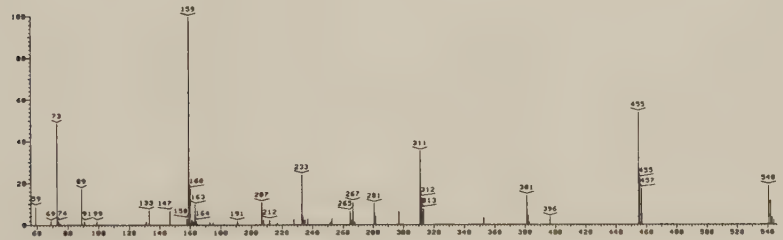


Fig.55d: Massenspektrum von
α, ω -Dibuttersäuremethylester-decamethyl-pentasiloxan

Fig.55e: Massenspektrum von
α, ω -Dibuttersäuremethylester-dodekamethyl-hexasiloxan

Fig.55f: Massenspektrum von
α, ω -Dibuttersäuremethylester-tetradecamethyl-heptasiloxan

Fig.55g: Massenspektrum von
α, ω -Dibuttersäuremethylester-hexadecamethyl-octasiloxan

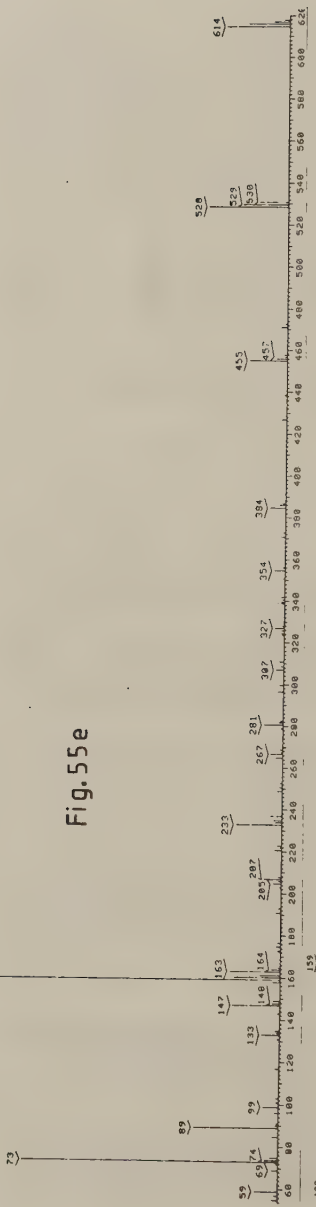


Fig.55e

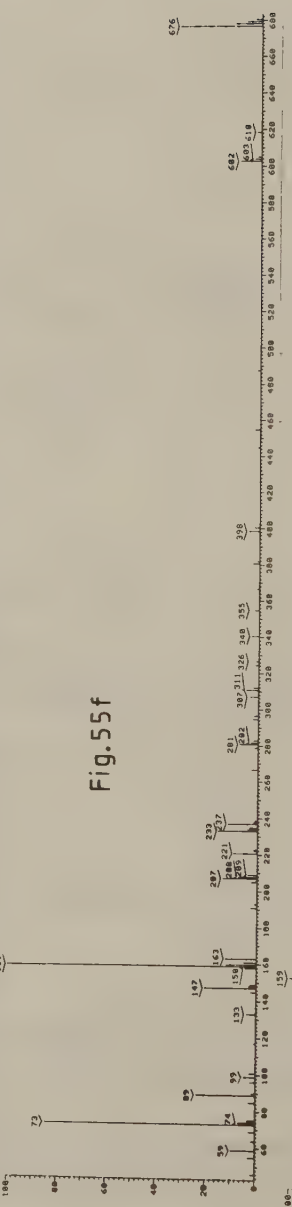


Fig.55f

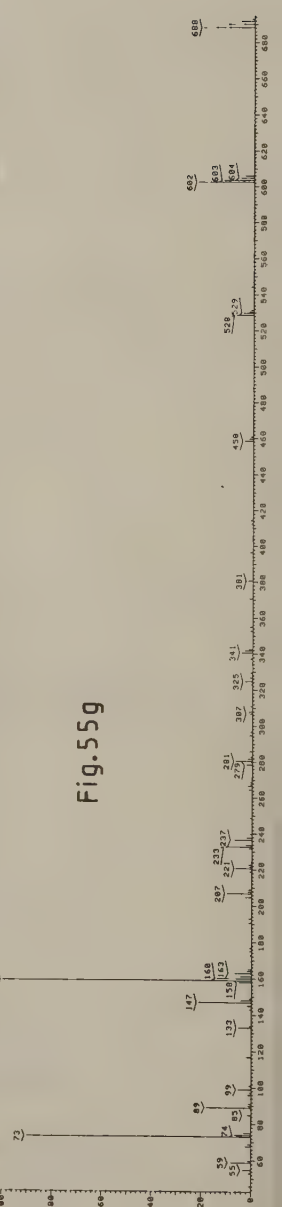


Fig.55g

III. Gaschromatographische Enantiomerentrennung von Molekülen mit optisch aktivem Schwefelatom

1. Räumliche Betrachtungen zur Chiralität schwefelhaltiger Moleküle

Durch seine d-Orbitale ist der Schwefel in der Lage, eine Vielfalt chiraler Strukturen auszubilden. Man erkennt dies leicht am Beispiel des achiralen DMSO-Moleküls (Fig.56)(88).

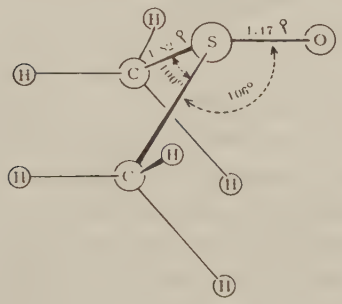
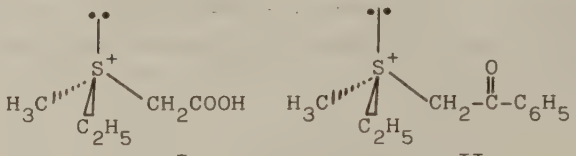


Fig.56: Struktur von DMSO (88)

Aufgrund der ($d\pi - p\pi$)Rückbindung in der Sulfinylgruppe können der Sauerstoff, die beiden Methylgruppen und das freie Elektronenpaar die Ecken eines verzerrten Tetraeders besetzen. Im Falle zweier unterschiedlicher Reste $R_1 \neq R_2$ liegen somit optische Antipoden vor. Neben dem verzerrten Tetraeder hat der Schwefel durch die Ausbildung einer verzerrten trigonalen Bipyramide eine weitere Möglichkeit, chirale Moleküle zu bilden. Zu dieser Klasse gehören die Sulfurane, in denen der Schwefel von vier unterschiedlichen Liganden und einem freien Elektronenpaar umgeben wird. Obwohl bisher nur cyclische chirale Sulfurane bekannt sind, soll in diesem Zusammenhang erwähnt werden, daß für acyclische Sulfurane mit vier verschiedenen Liganden 20 isomere Strukturen theoretisch existieren können.

2. Überblick über bisherige Trennungen chiraler Schwefelverbindungen mit Asymmetriezentrum am Schwefel

Im Jahre 1900 wurde erstmals von der Trennung chiraler Organoschwefel-Verbindungen berichtet. Pope und Peachey (89) sowie Smiles (90) trennten die Sulfoniumsalze I und II.



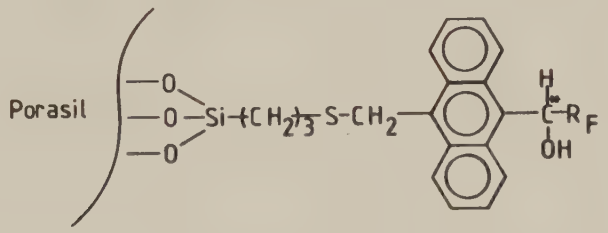
I II

1926 erfolgte die erste Trennung optisch aktiver Sulfoxide durch Harrison, Kenyon und Phillips (91). Sie beschrieben die Trennung von 4'Amino-4-methyldiphenylsulfoxid und m-Carboxyphenyl-methyl-sulfoxid durch fraktionierte Kristallisation der diastereomeren Salze, die sie durch Umsetzung mit d-Camphersulfonsäure bzw. Brucin erhielten. Jedoch erst ab 1950 wurde diesem Gebiet durch die Isolierung natürlich vorkommender chiraler Sulfoxide (92,93) wie Alliin, Sulforaphan, Allicin und Methionin-S-oxid verstärktes Interesse entgegengebracht.

Neben der klassischen Trennung von Sulfoxid-Enantiomeren mittels diastereomerer Salze wurden auch andere Wege beschrieben, die es erlauben, racemische Sulfoxide zu trennen, die keine funktionellen Gruppen enthalten. So berichteten Backer und Keuning (94) von der Trennung des 2,5-Dithio-spiro(3,3)heptan-2,5-dioxids

mit Hilfe eines Kobaltkomplexes und rechtsdrehender Camphersulfonsäure als Ligand. Montanari und Mitarbeiter (95) erhielten eine teilweise Trennung racemischer Vinyldisulfoxide durch Flüssigkeitschromatographie an α-Lactose. Mit diesem

Trennverfahren an chiralen Phasen gelang es auch Pirkle und House, eine große Anzahl racemischer Sulfoxide zu trennen (96-98). Bei den verwendeten stationären Phasen handelte es sich um an Kieselgel gebundene fluorhaltige Alkohole



mit R_F = Perfluoralkyl.

Die Trennung wird dabei auf das Vorhandensein von drei Wechselwirkungen zurückgeführt. Die diastereomeren Konformationen werden sowohl durch zwei Wasserstoffbrückenbindungen 1) und 2) sowie durch eine $\pi-\pi$ Wechselwirkung 3) zwischen den aromatischen Ringen von stationärer Phase und Sulfoxid stabilisiert (siehe Fig.57).

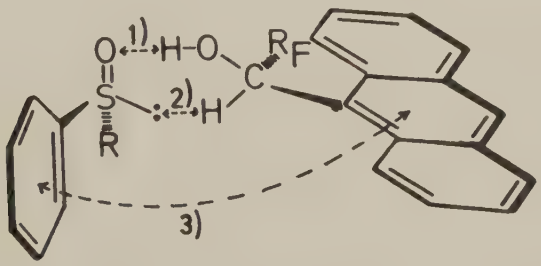


Fig.57: Assoziationskomplex für die Sulfoxid-Enantiomerentrennung nach Pirkle

Als Beispiel für eine durchgeführte Enantiomerentrennung ist in Fig.58 die Trennung des racemischen n-Dodecyl-2,4-dinitrophenylsulfoxids an der oben beschriebenen Phase wiedergegeben (96).

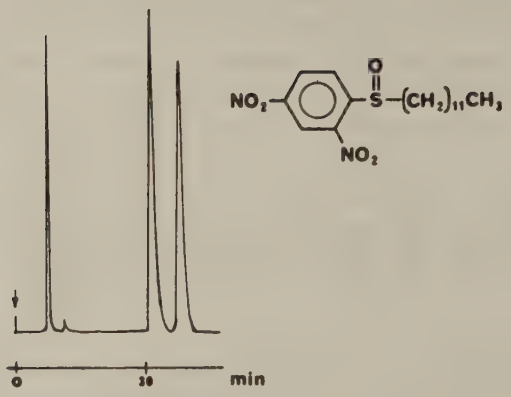


Fig.58: Enantiomerentrennung von n-Dodecyl-2,4-dinitrophenylsulfoxid (96)

Aufgrund der notwendigen π,π -Wechselwirkung 3) zwischen den aromatischen Ringen bleibt dieses Trennverfahren allerdings auf aromatische Sulfoxide beschränkt.

Neben der flüssigkeitschromatographischen Trennung racemischer Sulfoxide gelang Allenmark und Bomgren die Trennung eines Sulfoximinenantiomerenpaares an einer albuminhaltigen stationären Phase (99).

Über eine gaschromatographische Enantiomerentrennung chiraler Schwefelmoleküle an einer chiralen stationären Phase wird in der Literatur nicht berichtet. Einen ausgezeichneten Überblick über die Chemie chiraler Schwefelverbindungen bis 1982 (Synthese, Racemattrennungen, spektroskopische Ergebnisse usw.) vermittelt der von Mikolajczyk und Drabowicz verfaßte Übersichtsartikel (167).

3. Gaschromatographische Trennung des Methionin-S-oxid- bzw. 2-Methylmethionin-S-oxid-Diastereomerenpaares an einer Chirasil-Val-Säule

In einer Vielzahl biologischer Systeme erfolgt die Oxidation eines Thioethers zum entsprechenden Sulfoxid (100-104). Hauptsächlich handelt es sich hierbei um die Sulfoxide S-alkylierter L-Cystein-Derivate (104-106) und um Methionin-S-oxid (101-103, 107). Gemeinsam ist allen Verbindungen ein Asymmetriezentrum am Schwefel. Mit dem asymmetrischen Kohlenstoff der Aminosäure lassen sich so vier mögliche Stereoisomere formulieren.

Die vier synthetischen Isomere des Methionin-S-oxids wurden zum ersten Mal 1947 von Lavin durch fraktionierte Kristallisation der Pikrate getrennt (108). 1966 gelang Lucas und Levenbook die Isolierung von L(+)-Methionin-S-oxid aus der Schmeißfliege (Phormia regina) (107). Indem sie die synthetischen Diastereomere über eine 1,4 m lange Säule durch Ionenaustauschchromatographie trennten, konnten sie ihr Produkt entsprechend identifizieren. Mit der Röntgenstrukturanalyse von (+)-S-Methyl-L-Cystein-S-oxid (109) konnte erstmals die absolute Konfiguration an einem asymmetrischen Schwefelatom bestimmt werden. Mit diesem Standard wurde die Konfiguration der Sulfinylgruppe anderer Substanzen unter Zuhilfenahme von ORD-Messungen entsprechend zugeordnet (107, 110). Das in der Natur vorkommende L(+)-Methionin-S-oxid hat demnach eine S-Konfiguration und das L(-)-Isomer eine R-Konfiguration am Schwefel.

Die erste gaschromatographische Trennung der vier Isomere des Methionin-S-oxids wird als PFP/n-Propylester beobachtet. Bei der routinemäßigen Aminosäureanalyse zeigt sich, daß die Haltbarkeit des Methioninderivates sehr begrenzt ist. Wird eine derivatisierte Probe vier bis fünf Tage bei Raumtemperatur gelagert, liegt der größte Teil des Methionins als S-Oxid vor. Die Oxidation erfolgt dabei bereits durch den Luftsauerstoff. Daß es sich bei den vier Peaks

zwischen Lysin und Tryptophan wirklich um die S-Oxide des Methionins handelt, wird durch eine GC/MS-Messung bestätigt. Fig.59 zeigt das Massenspektrum des eingesetzten Methionin-derivates, Fig.60 das des derivatisierten Methionin-S-oxids.

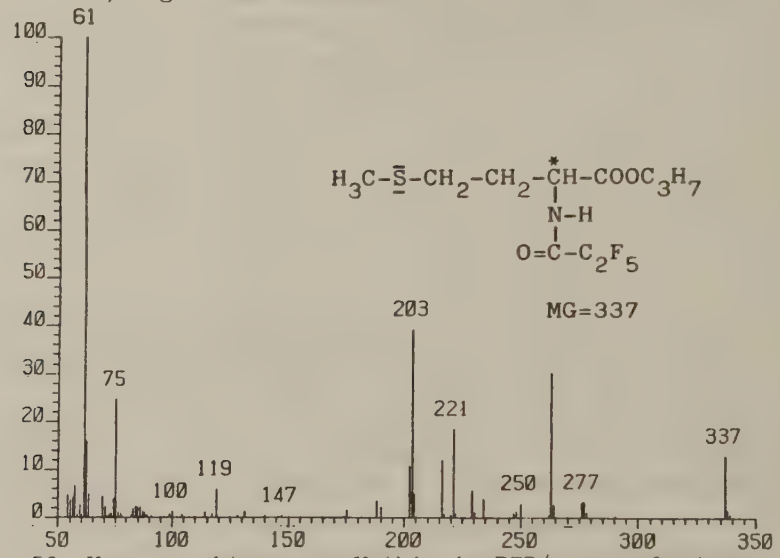


Fig.59: Massenspektrum von Methionin-PFP/n-propylester

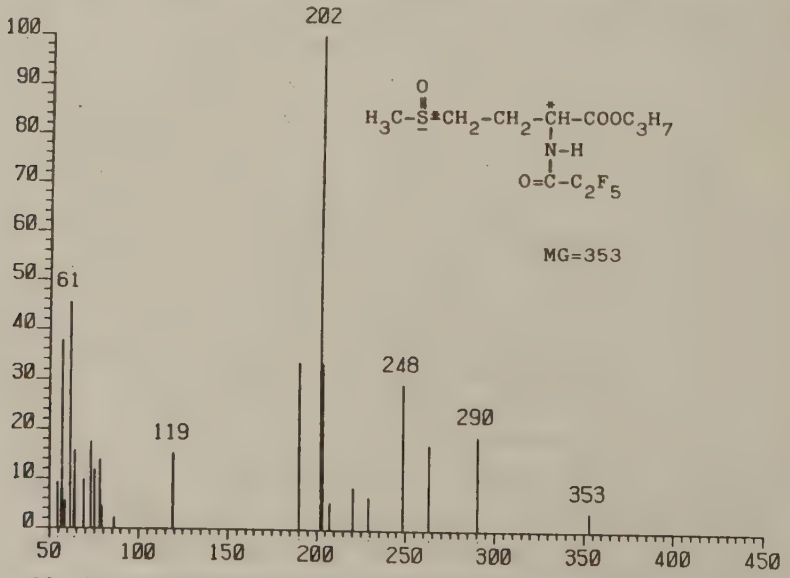
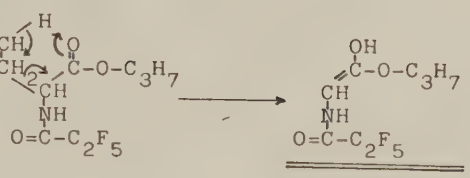
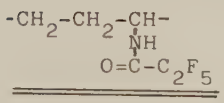


Fig.60: Massenspektrum von Methionin-S-oxid-PFP/n-propylester

Zuordnung der wichtigsten m/e-Signale des Massenspektrums aus Fig.59:

337: M^+

263: 

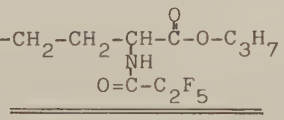
203: 

119: $-C_2F_5$

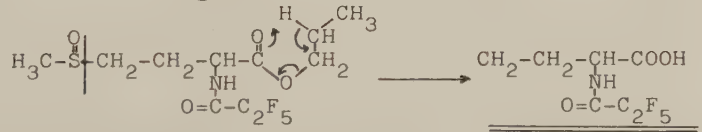
61: $H_3C-S-CH_2-$

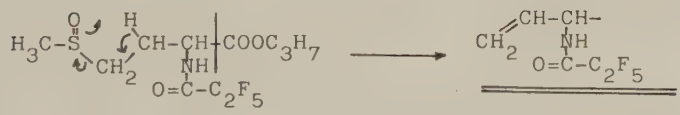
Zuordnung der wichtigsten m/e-Signale des Massenspektrums aus Fig.60:

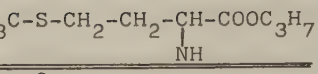
353: M^+

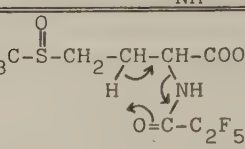
290: 

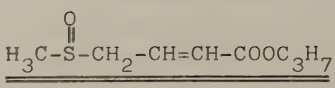
263: wie 263 in Fig.59

248: 

202: 

190: a) 

b) 



b) dürfte wahrscheinlicher sein, da a) in Fig.59 nur eine untergeordnete Rolle spielt

119: wie 119 in Fig.59

61: wie 61 in Fig.59

Neben den Molpeaks (M^+) läßt vor allem die Zuordnung der Signale 203 und 202 den Schluß zu, daß hier ein Übergang von einem Thioether zu einem Sulfoxid erfolgt ist.

Entsprechend der von Iselin beobachteten Reduktion des S-Oxids zum Methionin durch Erhitzen mit konz. Salzsäure (111) scheitert die Veresterung von Methionin-S-oxid mit 4 N Salzsäure/n-Propanol. Bei dieser Derivatisierung wird der Thioether quantitativ zurückgebildet. Durch kurzfristiges Erhitzen mit H_2O_2/Eisessig wird das S-Oxid gebildet, liegt aber am Schwefel wieder racemisch vor (112, 113). Für die Derivatisierung von optisch reinen oder mit einem Enantiomer angereicherten Proben hat sich die Umsetzung mit Pentafluorpropionsäureanhydrid und Diazomethan bewährt. Die Trennung der vier Isomere des Methionin-S-oxids und 2-Methylmethionin-S-oxids ist in Fig.61 wiedergegeben.

Es wird keine Koaleszenz der gaschromatographischen Peaks beobachtet, was eine hohe konfigurative Stabilität des chiralen Schwefels bei 200°C zeigt. Die geometrischen Isomere eluieren wie folgt:
R_S,R_C-Methionin-S-oxid, S_S,R_C-Methionin-S-oxid, R_S,S_C-Methionin-S-oxid, S_S,S_C-Methionin-S-oxid.
Interessanterweise unterscheiden sich die zueinander diastereomeren Enantiomerenpaare (RR : SS; SR : RS) beträcht-

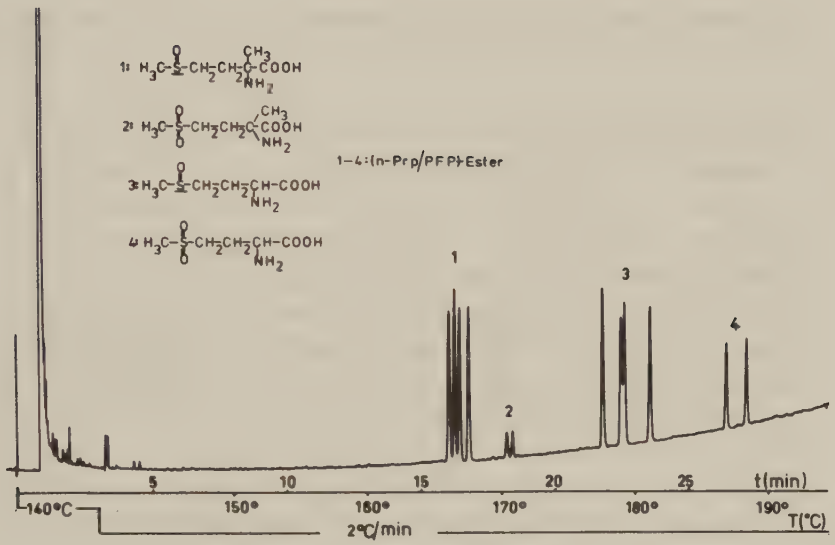


Fig.61: Gaschromatographische Trennung aller Isomere (PFP/n-propylester) von
1 = 2-Methylmethionin-S-oxid
2 = 2-Methylmethionin-S-dioxid
3 = Methionin-S-oxid
4 = Methionin-S-dioxid

lich in ihrer Trennbarkeit an der chiralen Phase. Während die gleichsinnige Konfiguration an beiden Asymmetriezentren zu einem ungewöhnlich hohen Trennfaktor führt, hat die gegensinnige Konfiguration eine nur schwache chirale Erkennung zur Folge. Im ersten Falle begünstigen offenbar die beiden Chiralitätszentren des Methionin-S-oxids die Bildung eines diastereomeren Assoziationskomplexes mit Chirasil-Val, während sie im zweiten Fall hemmend wirken. Anders betrachtet zeigt das Antipodenpaar S,R : R,S in seiner Wechselwirkung mit Chirasil-Val stärkeren "meso"-Charakter; die beiden Assoziationsenthalpievektoren haben ungefähr gleiche, aber entgegengesetzte Größe. Die schwache chirale Erkennung liegt also nicht an einer zu geringen Stärke molekularer Wechselwirkungen. Dies wird auch durch

die Methionin-S-dioxid-Enantiomere (vgl. Fig.61) bestätigt, deren Trennfaktoren im Vergleich zum Methionin ungewöhnlich groß ist.

Bemerkenswert ist auch das Verhalten der S-Oxide des 2-Methylmethionins. Während 2-Methylmethionin selbst nicht getrennt wird, sind alle S-Oxid-und S-Dioxid-Enantiomere trennbar (Fig.61). Im allgemeinen ist die Auflösung von 2-Methylaminosäure-Enantiomeren an chiralen Phasen gering (114). Durch die Einführung einer weiteren polaren, zur Wasserstoffbrücken-Bildung befähigten, aber nicht chiralen Sulfon-Gruppe wird die Trennung wesentlich verbessert. Auch in diesem Fall ist die sehr geringe chirale Erkennung bei der Ausgangsverbindung nicht hauptsächlich auf ungenügend starke Assoziation von Selektor und Selektand zurückzuführen; vielmehr stehen zwei oder mehrere mögliche "Elementarassoziationskomplexe" in Konkurrenz. Die Sulfongruppe führt zu einer stärkeren Assoziation und entsprechend höheren Enthalpieunterschieden.

Die Zuordnung der absoluten Konfiguration erfolgt nur für Methionin-S-oxid. Für diese Verbindung ist die präparative Trennung der Isomere in der Literatur ausführlich beschrieben. Neben der Trennung der unterschiedlich löslichen Pikrate (108) kann das L-Methionin-S_S-oxid auch durch asymmetrische Oxydation mit Gold(III)verbindungen erhalten werden (115). Während diese Oxydation quantitativ stereospezifisch verläuft, ergibt die Oxydation mit H_2O_2 lediglich einen geringfügigen Überschuß des S_s-Oxids (108). Da auch bei 2-Methylaminosäuren das D- vor dem L-Enantiomer eluiert, kann man davon ausgehen, daß die Elutionsfolge beim 2-Methylmethionin-S-oxid mit der des Methionin-S-oxids übereinstimmt. Die Überprüfung der S-Oxide und S-Dioxide erfolgt durch GC/MS-Kopplung. Fig.62a-c zeigt die Massenspektren von a) Methionin-S-dioxid, b) 2-Methylmethionin-S-oxid und c) 2-Methylmethionin-S-dioxid. Alle Verbindungen liegen als PFP/n-propylester vor.

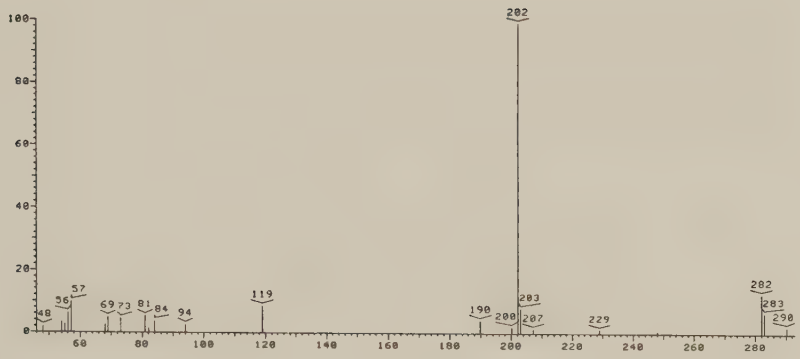


Fig.62a: Massenspektrum von Methionin-S-dioxid

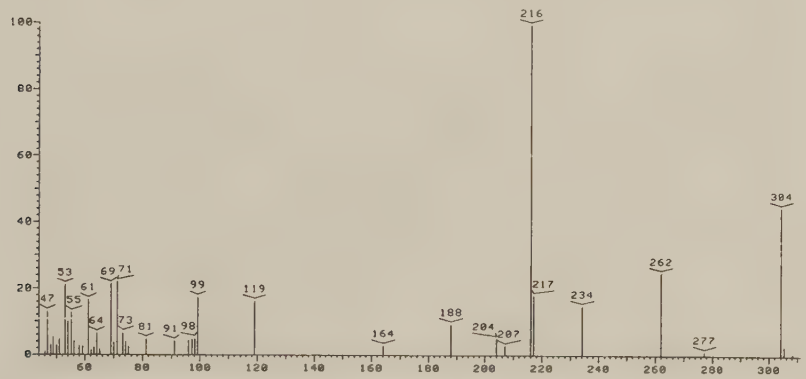


Fig.62b: Massenspektrum von 2-Methylmethionin-S-oxid

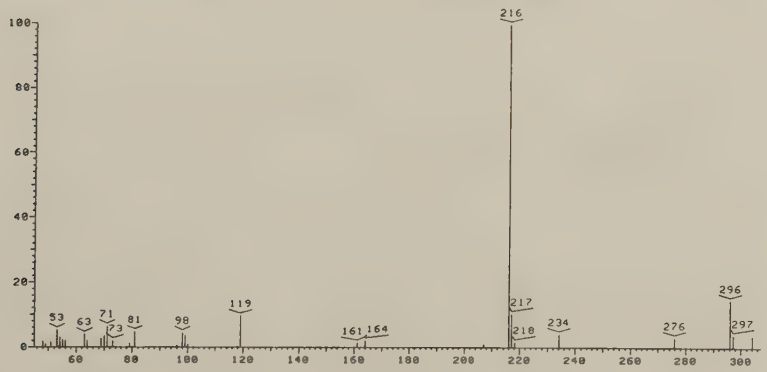


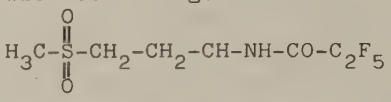
Fig.62c: Massenspektrum von 2-Methylmethionin-S-dioxid

Zuordnung der wichtigsten m/e-Signale der Massenspektren aus Fig.62a-c:

zu Fig.62a

290: wie 290 in Fig.60

282:



248: wie 248 in Fig.60
202: wie 202 in Fig.60
119: wie 119 in Fig.60

(Sehr schön läßt sich auch der Rückgang von m/e=61 und m/e=263 (vgl.Fig.59 und 60) vom Methionin über das Sulfoxid zum Sulfon beobachten.)

zu Fig.62b

Ersatz des α-ständigen Protons durch eine Methylgruppe führt zu den um 14 Masseneinheiten größeren Fragmenten als in Fig.60.

So wird aus 290(Fig.60) ⟶ 304(Fig.62b)
aus 263(Fig.60) ⟶ 277(Fig.62b)
aus 202(Fig.60) ⟶ 216(Fig.62b)

m/e=119 und 61 entsprechen 119 und 61 aus Fig.60

zu Fig.62c

Die Fragmente des 2-Methylmethionin-S-dioxids sind aus dem Massenspektrum von 2-Methylmethionin-S-oxid ableitbar.

4. Gaschromatographische Trennung des L-Methionin-SR-sulfoximins an Chirasil-Val

Wie bereits erwähnt, hängt die physiologische Wirksamkeit einer Substanz unter anderem von ihrer Struktur ab. Dies gilt auch für Verbindungen mit einem asymmetrischen Schwefelatom. So konnte gezeigt werden, daß die rechtsdrehende Komponente des (±) S-Allyl-L-Cystein-S-oxids (auch Alliin genannt) rasch und quantitativ durch das Enzym Alliinase abgebaut wird (127). Dagegen verläuft der Abbau des linksdrehenden Isomers sehr viel langsamer. Derivate des D-Cysteins

bleiben unverändert. Die intratumorale Injektion von Alliin in Jensen- und Benzpyren-Sarkomen hatte in einigen Fällen das Verschwinden des Tumors zur Folge (128). Weitere Beispiele,die die antibiotische Wirkung natürlich vorkommender Sulfoxide belegen, sind der Literatur zu entnehmen (127).

Seit längerer Zeit werden intensive Untersuchungen über die biologische Wirksamkeit verschiedener Methioninderivate durchgeführt (116, 120-124). Dabei hat sich ergeben, daß einige Derivate als Inhibitoren für spezielle Enzymsysteme geeignet sind. In Tabelle 5 wird die Inhibitoreigenschaft einiger Methioninderivate am Beispiel von γ-Glutamylcystein-Synthetase wiedergegeben (116).

Tabelle 5: Einfluß einiger Methioninderivate auf die Aktivität von γ-Glutamylcystein-Synthetase(116)

Methionine derivative	% Inhibition
L-Methionine-*RS*-sulfoximine	98
D-Methionine-*RS*-sulfoximine	0
L-Methionine-*RS*-sulfoxide	4
D-Methionine-*RS*-sulfoxide	5
L-Methionine sulfone	37
D-Methionine sulfone	0
L-Methionine	0
L-Ethionine-*RS*-sulfoximine	86

Methioninsulfoximin, das bereits durch seine krampfauslösende Wirkung bekannt ist (117-119), wird nicht nur als Inhibitor für γ-Glutamylcystein-Synthetase (116), sondern auch für Glutamin-Synthetase eingesetzt (120). Während die Aufhebung der Enzymaktivität für Glutamin-Synthetase irreversibel verläuft (121-124), geschieht dies im Falle von γ-Glutamylcystein-Synthetase reversibel (116). Bemerkenswert ist die Tatsache, daß von den vier möglichen Isomeren lediglich eins, nämlich L-Methionin-S-sulfoximin, sowohl für die Inhibitoreigenschaft beider Enzyme als auch für die krampfauslösende Wirkung verantwortlich ist.

Methioninsulfoximin erhält man durch Umsetzung von Methionin-S-oxid mit Stickstoffwasserstoffsäure (125). Unter den üblichen Derivatisierungsbedingungen für Aminosäuren wird das Sulfoximin am Schwefel reduziert. Durch schonende Veresterung mit 2 N HCl/Methanol und Acylierung mit Pentafluorpropionsäureanhydrid gelingt die Derivatisierung. Fig.63 zeigt die gaschromatographische Diastereomerentrennung der beiden L-Methionin-SR-sulfoximin-PFP - methylester.

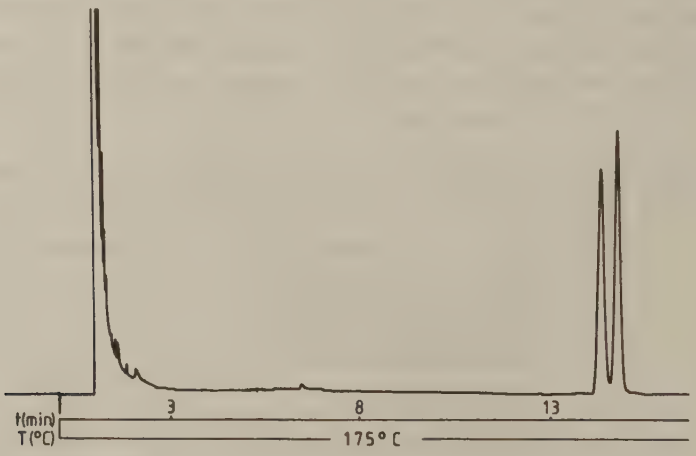


Fig.63: GC des L-Methionin-SR-sulfoximin-Diastereomerenpaares an Chirasil-Val
Derivate: PFP/Methylester
p_i = 0,4 kg/cm² H_2
T = 175°C isotherm

Die Zuordnung der absoluten Konfiguration wurde nicht durchgeführt. Zu diesem Zweck müssen die diastereomeren Verbindungen getrennt werden. Dies kann entweder nach Christensen (126) durch fraktionierte Kristallisation der Camphersulfonsäuresalze oder durch chromatographische Trennung am Aminosäureanalysator (124) geschehen. Die Überprüfung der beiden Peaks erfolgt durch GC/MS-Kopplung. In Fig.64 ist das Massenspektrum von Methioninsulfoximin-(PFP/Methylester) dargestellt.

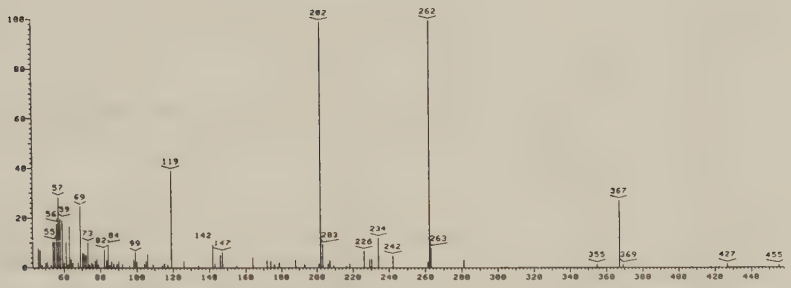
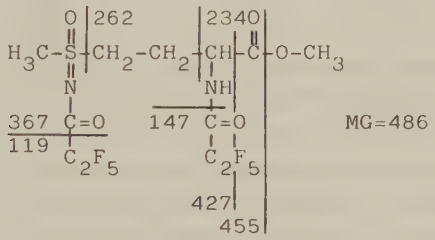


Fig.64: Massenspektrum von Methioninsulfoximin-PFP-methylester

Zuordnung der wichtigsten m/e-Signale des Massenspektrums aus Fig.64:



m/e=2o2 (wie 202 in Fig.60)

5. Gaschromatographische Enantiomerentrennung chiraler Sulfoxide mit Asymmetriezentrum am Schwefel

Bei den in Kapitel III.3. und 4. getrennten Verbindungen handelt es sich jeweils um Diastereomere. Die Trennung erfolgt dabei sowohl durch die chirale Erkennung als auch aufgrund der unterschiedlichen physikalischen Eigenschaften der Verbindungen. Daß eine Chirasil-Val-Kapillare in der Lage ist, die Chiralität eines Schwefelatoms zu erkennen, wird durch die Trennung von Enantiomeren belegt, die lediglich ein Schwefelatom als Asymmetriezentrum besitzen. Fig.65 und 66 zeigen die Enantiomerentrennung einiger chiraler Sulfoxide.

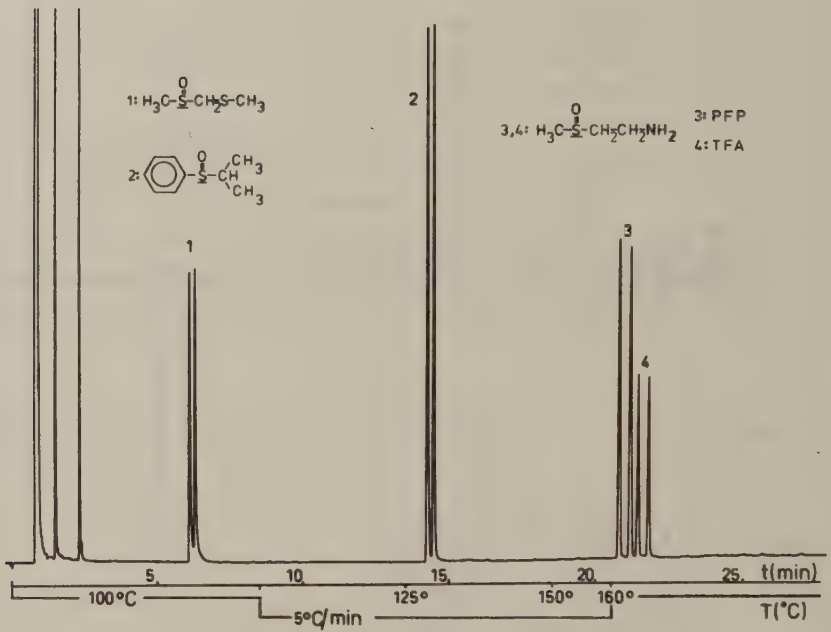


Fig.65: Enantiomerentrennung von: 1 = Methylsulfinyl-methylmethylsulfid, 2 = Phenylisopropylsulfoxid und 3 bzw. 4 = ß -Aminoethylmethylsulfoxid

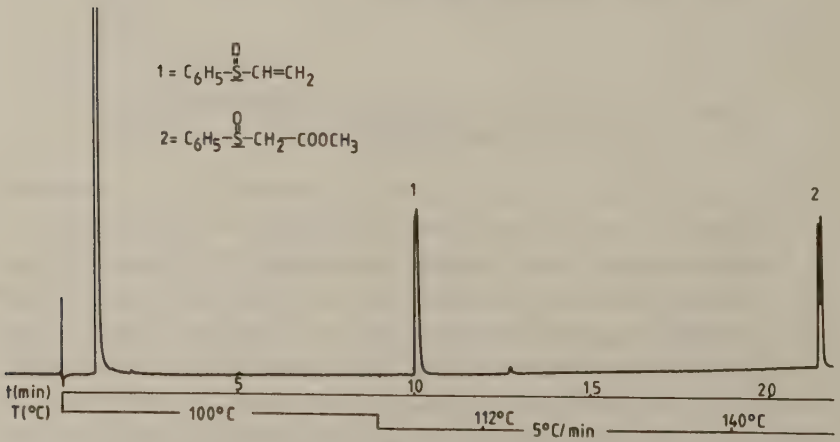


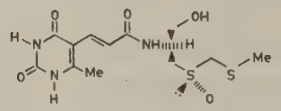
Fig.66: Versuch der Enantiomerentrennung von: 1 = Phenyl-vinylsulfoxid und 2 = Phenylsulfinylessigsäuremethyl-ester

zu Fig.65: Derivate: 3 = PFP-Amid; 4 = TFA-Amid
p_i = 0,4 kg/cm² H_2
T = 100/8,5/5/160°C

zu Fig.66: p_i = 0,4 kg/cm² H_2
T = 100/9/5/200°C

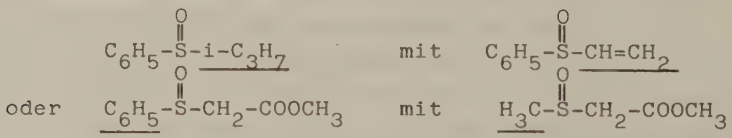
Das Sulforaphan-homologe β - Aminoethylmethylsulfoxid wird nach Karrer (129) aus Phtalimidoethyl-methyl-sulfid über β-Aminoethyl-methyl-sulfid gewonnen. Dort wird auch die Trennung der Enantiomere durch fraktionierte Kristallisation der Dibenzoyl-D-weinsäuresalze beschrieben. Die Anreicherung eines Antipoden kann nun gaschromatographisch kontrolliert werden. Hierfür wird eine Probe des auskristallisierten Salzes mit Kaliumkarbonat versetzt, das entstandene freie Amin mit PFPA derivatisiert und die Enantiomerenanteile an einer Chirasil-Val-Kapillare direkt bestimmt. Auf diese Weise kann gezeigt werden, daß die d-Form vor der l-Form eluiert. Für die Trennung spielt die Acylamino-Gruppe eine wichtige Rolle. Durch ihre Assoziation an die Carboxamid-Gruppe des Valin-t-butylamid-Restes wird eine eindeutige Orientierung des Chiralitätszentrums am Schwefel relativ zum chiralen Kohlenstoff bewirkt.
Bei Phenylisopropylsulfoxid und Methylsulfinylmethylmethyl-sulfid (Sulfoxide ohne weitere funktionelle Gruppe) erfolgt die Assoziation durch Ausbildung nur einer Wasserstoffbrücke. Zwar sind die Trennfaktoren geringer als beim β-Aminoethyl-methylsulfoxid, die chirale Erkennung der unsubstituierten Sulfoxid-Enantiomere ist trotzdem noch erstaunlich groß. Wahrscheinlich läßt sich das auf die direkte Beteiligung des chiralen Schwefels an der diastereotropen Assoziatbildung zurückführen - im Gegensatz zur Kohlenstoff-zentrierten Chiralität, bei der die Assoziation über benachbarte Heteroatome (C=O, NH) vermittelt werden muß.
Der gaschromatographischen Enantiomerentrennung von Methylsulfinylmethylmethylsulfid kommt eine besondere Bedeutung zu. Bei der Synthese von Sparsomycin (130,131),

einem natürlich vorkommendem Antibiotikum und Antitumormittel,



Sparsomycin (Sc - Rs)

muß die R-Konfiguration am Schwefel beim Einbau des Fragmentes erhalten bleiben. Die optische Reinheit des oben eingezeichneten Fragmentes kann nun sowohl vor als auch nach der Synthese (Abspaltung vom Produkt) gaschromatographisch an Chirasil-Val überprüft werden. Auch bei Sparsomycin hat sich gezeigt, daß von den vier möglichen Isomeren nur eines (nämlich die C_S,S_R-Konfiguration) antibiotisch wirksam ist.
Weniger gut werden die Verbindungen Phenylvinylsulfoxid und Phenylsulfinylessigsäuremethylester getrennt (vgl.Fig. 66). Während Phenylsulfinylessigsäuremethylester noch recht deutlich angetrennt wird, ist dies bei Phenylvinylsulfoxid nur noch im Ansatz erkennbar. An dieser Stelle sei erwähnt, daß beim Versuch der Enantiomerentrennung von Methylsulfinylessigsäuremethylester keinerlei Antrennung mehr beobachtet wird. Durch Vergleich von



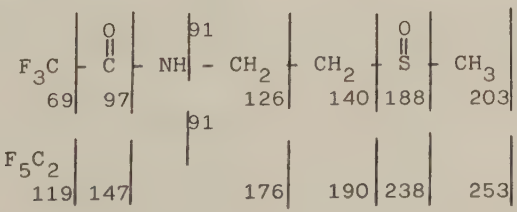
wird deutlich, daß auch mit der Trennung chiraler Sulfoxide der Substituenteneinfluß auf die Trennung optischer Antipoden untersucht werden kann.

Die unterschiedlichen Ergebnisse der Trennung von Sulfoxid-Enantiomerenpaaren werden durch Betrachtung folgender mesomerer Grenzstrukturen verständlicher.

Die für die Unterscheidung wichtige Voraussetzung, die Ausbildung eines Tetraeders, wird durch die rechte Mesomerieform besser veranschaulicht als durch die linke. Beim Phenylisopropylsulfoxid wird der Tetraeder aus sterischen Gründen ausgeprägter sein; folgerichtig findet man eine gute Trennung der Enantiomere. Bei Sulfoxiden des Alkylsulfinylessigsäureester-Typs wirkt die -COOR-Gruppe elektronenziehend und bewirkt eine Begünstigung der linken Mesomerieform. In diesem Fall werden die Enantiomere schlecht, manchmal sogar überhaupt nicht getrennt. Beim Phenylvinylsulfoxid erhält man eine schlechte Antrennung. Hier liegt ein völlig durchkonjugiertes System vor, bei dem die rechte Mesomerieform vernachlässigbar ist.

Alle in diesem Kapitel beschriebenen Trennungen werden durch GC/MS-Kopplung überprüft und bestätigt. Da die Massenspektren der β-Aminoethylmethylsulfoxid-Derivate nochmals in einem anderen Zusammenhang benötigt werden, soll schon an dieser Stelle eine Interpretation dieser Spektren erfolgen. In Fig.67 ist das Massenspektrum des β- Aminoethylmethylsulfoxid-TFA-Derivates wiedergegeben.

Zuordnung der wichtigsten m/e-Signale des Massenspektrums aus Fig.67:



(Analoges findet man für das PFP-Derivat)

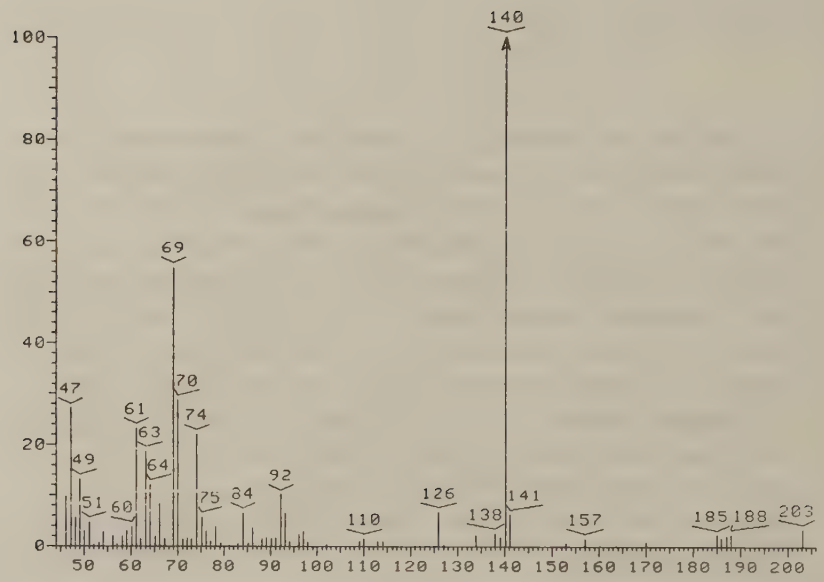


Fig.67: Massenspektrum von β-Aminoethylmethylsulfoxid (TFA-Derivat)

6. Versuch der gaschromatographischen Enantiomerentrennung von γ-Aminopropylmethylsulfoxid

γ-Aminopropylmethylsulfoxid ist das um eine Methylengruppe höhere Homologe des β-Aminoethylmethylsulfoxids. Die Darstellung kann analog über Phtalimidopropylmethylsulfid bzw. γ-Aminopropylmethylsulfid erfolgen (129). Eine elegantere Methode beschreibt Kjaer (132), der Methionin-S-oxid nach der Variante von Chatelus (133) decarboxyliert. Dieser Weg wird für die gaschromatographische Enantiomerentrennung eingeschlagen. Nach Umsetzung der Aminogruppe mit PFPA bzw. TFAA liefert die gaschromatographische Analyse an Chirasil-Val ein überraschendes Ergebnis (Fig.68).
Obwohl γ-Aminopropylmethylsulfoxid ein höheres Molekulargewicht hat, erhält man eine wesentlich kürzere Retentionszeit als für das niedrigere Homologe. Normalerweise zeigen

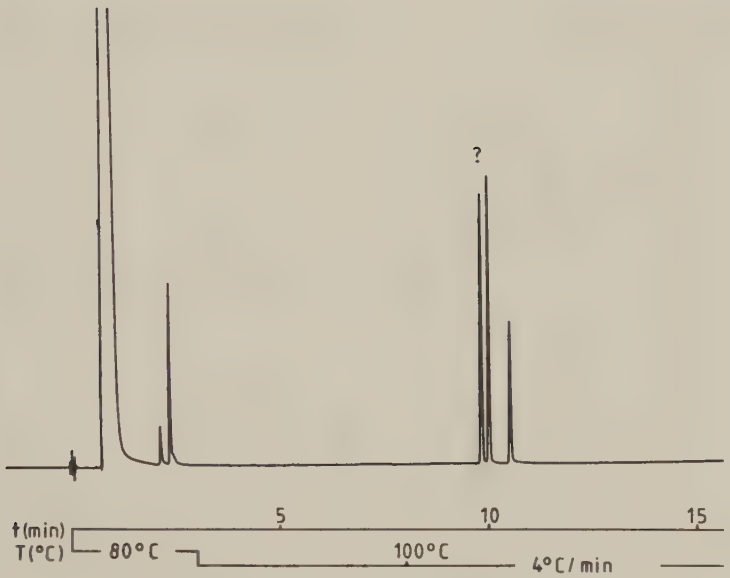


Fig.68: Gaschromatographische Enantiomerentrennung des Decarboxylierungsproduktes von Methionin-S-oxid (die Aminogruppe wird mit PFPA umgesetzt)
p_i = 0,4 kg/cm² H_2
T = 80/3/4/200°C

die Elutionsbanden der Sulfoxide aufgrund ihres basischen Charakters starkes Tailing; dieses wird in Fig.68 jedoch nicht beobachtet. Vielmehr deuten Retentionszeit, Rückgang des Trennfaktors und Peakform auf eine cyclische Struktur hin. Verstärkt wird diese Vermutung durch das Massenspektrum der Verbindung. In Fig.69 ist das EI-Massenspektrum des PFP-Derivates wiedergegeben.

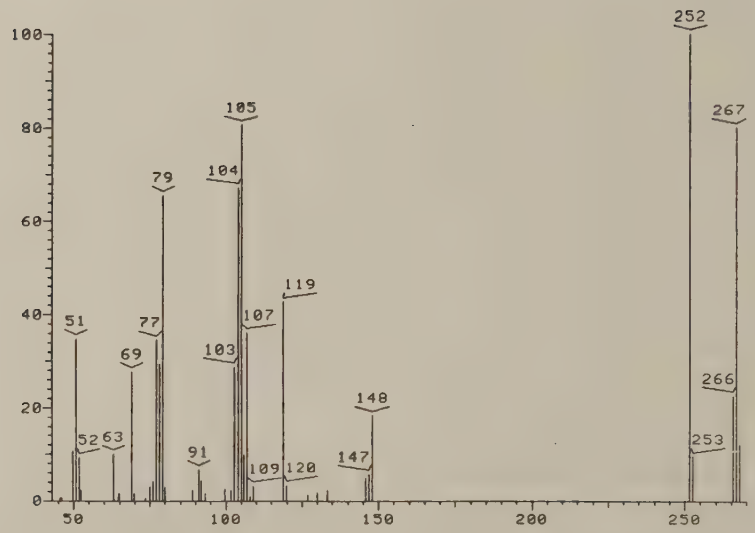


Fig.69: EI-Massenspektrum des Decarboxylierungsproduktes von Methionin-S-oxid (die Aminogruppe wird mit PFPA umgesetzt)

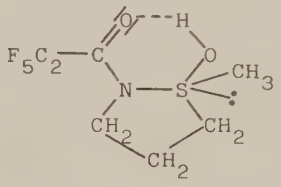
Zuordnung der wichtigsten m/e-Signale des Massenspektrums aus Fig.69 für eine acyclische Struktur:

267	248	120	105	91	72	63	15
C_2F_5	$-C(=O)-$	$-NH-$	$-CH_2-$	$-CH_2-$	$-CH_2-$	$-S(=O)-$	$-CH_3$
119	147	162	176	190	204	252	267

Im Vergleich zum Massenspektrum aus Fig.67 erhält man hier ein Massenspektrum, das mit einer linearen Struktur nicht in Einklang zu bringen ist. Durch Aufnahme von CI-Massenspektren (Isobutan, Ammoniak) kann gezeigt werden, daß keine Massen oberhalb von m/e = 267 existieren (d.h. m/e = 267 ist höchstwahrscheinlich der Molpeak). Da kein zweiter Acylrest gefunden wird, scheidet ebenfalls die Annahme einer "Pummerer-Umlagerung" ähnlichen Reaktion aus. Hierbei würde der Schwefel seine Chiralität verlieren und am benachbarten Kohlenstoffatom ein neues Chiralitätszentrum gebildet werden. Diese Reaktion kann jedoch nicht

berücksichtigt werden. Durch Acylierung von γ-Aminopropylmethylsulfid und anschließende Oxydation des Schwefels wird das gleiche Produkt gefunden, dagegen beim β-Aminoethylmethylsulfoxid in beiden Fällen nicht.

Für die acylierte Verbindung des Decarboxylierungsproduktes von Methionin-S-oxid soll aufgrund der gaschromatographischen Eigenschaften und der Massenspektren folgende Struktur vorgeschlagen werden:



MG = 267

Das Massenspektrum aus Fig.69 muß demnach wie folgt interpretiert werden:

267: M^+ (intensiv, da durch Bindungsöffnung im Ring M^+ erhalten bleibt)

252: = 267-15 (Abspaltung der Methylgruppe vom Schwefel)

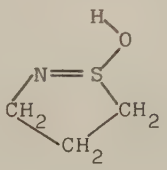
Das Fehlen von m/e=204 (= $F_5C_2-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-NH-CH_2-CH_2-CH_2-$) ist ein wichtiges Zeichen dafür, daß keine lineare Struktur vorliegt (vgl. m/e=140 bzw.190 für β-Aminoethylmethylsulfoxid-TFA-bzw.-PFP-Derivat).

148: = 267-119 (Abspaltung der C_2F_5-Gruppe vom Molekül)

147: C_2F_5-CO-

119: C_2F_5-

105:



Wäre m/e=105 durch Fragment $-CH_2-CH_2-CH_2-\overset{O}{\overset{\|}{S}}-CH_3$ zu erklären, müßte eine bedeutend kleinere Intensität (entsprechend m/e=91 des niedrigeren Homologen) be-

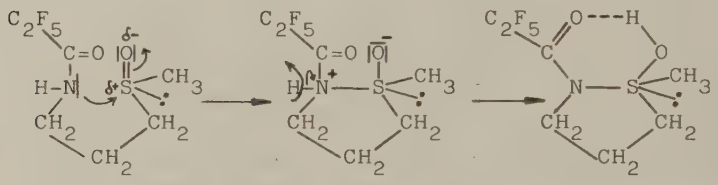
obachtet werden. Entsprechendes gilt für m/e=77. Für die Ringstruktur wird dieses Fragment folgendermaßen interpretiert:

$$-CH_2-CH_2-S-OH$$

Bei den linearen Strukturen wird das Fragment $-CH_2-\overset{\overset{O}{\|}}{S}-CH_3$ nicht beobachtet.

m/e= 69 = CF_3-

Für die Ringbildung bietet sich der folgende Mechanismus wegen der mesomeren Grenzstrukturen der Sulfinylgruppe an:



Dieses substituierte S-Hydroxy-isothiazolidin gehört zur Klasse der Sulfurane und ist ein Beispiel für ein trigonal-bipyramidales Asymmetriezentrum.

7. Versuch der gaschromatographischen Enantiomerentrennung von Allicin

Allicin ($H_2C=CH-CH_2-\overset{\overset{O}{\|}}{S}-S-CH_2-CH=CH_2$) entsteht durch enzymatischen Abbau (Alliinase) aus Alliin (S-Allylcystein-S-oxid) (134, 135) und ist die wesentliche Geruchskomponente des Knoblauchs. Cavallito und Bailey (136) isolierten als erste diese Verbindung aus einem wässrigen-alkoholischen Knoblauchextrakt (137). Allicin erwies sich zudem auch als die Verbindung im Knoblauch, die für dessen antibiotische Wirkung verantwortlich ist (138, 139). Eine wässrige Lösung des Allicins zeigt sowohl gegenüber grampositiven wie gramnegativen Mikroorganismen (z.B. Staphylokokken, Streptokokken, Bact. typhi, Bact. dysenteriae, Bact. enteriditidis, Vibrio cholerae) eine gleich starke antibakterielle Wirkung.

Es entspricht dabei 1 mg Allicin ungefähr 15 OE von Penicillin.

Im folgenden sollte versucht werden, die Enantiomere von synthetischem Allicin an einer Chirasil-Val-Kapillare zu trennen und das aus Knoblauch isolierte Allicin durch Vergleich zuzuordnen.
Im Handel erhältliches Allicin wird wegen seiner Unbeständigkeit als Allicinpuder geführt. Das Öl wird beim technischen Oxydationsprozess durch Verreiben mit Siliziumdioxid aufgenommen. Dabei werden die Ausgangsstoffe zur Herstellung so gewählt, daß das Endprodukt Allicinpuder einen Gehalt von 3,5 % Allicin enthält, der um $\pm$ 5 % schwankt. Durch Extraktion mit Methylenchlorid wird Allicin der gaschromatographischen Analyse zugänglich gemacht. Das Ergebnis ist in Fig.70 festgehalten.

Fig.70:

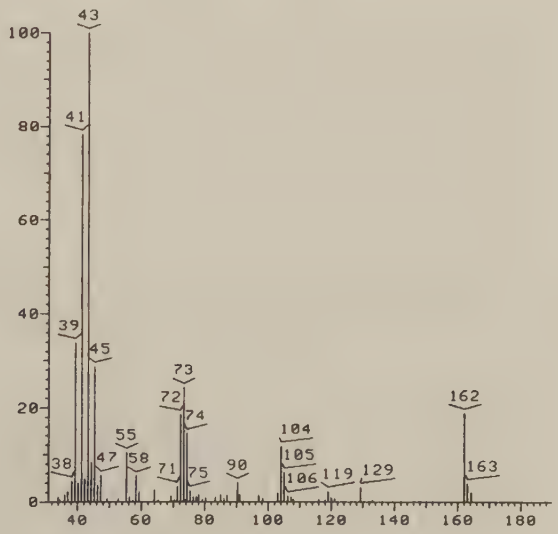


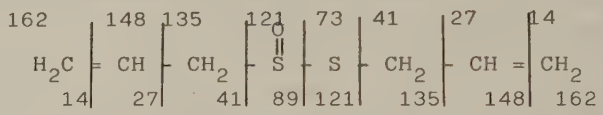
Fig.71:

zu Fig.70: Gaschromatographische Analyse der technischen Oxydationsprodukte von Diallyldisulfid an Chirasil-Val
p_i = 0,5 kg/cm² H_2
T = 80/3/4/200°C

zu Fig.71: Massenspektrum von Allicin

Die Unbeständigkeit der Verbindung wird durch Disproportionierungs- und Polymerisationsprodukte dokumentiert. Die Zuordnung der Produkte erfolgt durch GC/MS-Kopplung. In Fig.71 ist das Massenspektrum von Allicin dargestellt.

Zuordnung der wichtigsten m/e-Signale des Massenspektrums aus Fig.71:



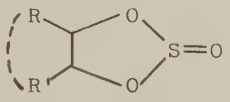
105: = 121-16(O)

Für aus Knoblauch extrahiertes Allicin erhält man dasselbe Chromatogramm und Spektrum. Als Ergebnis bleibt festzuhalten, daß die Enantiomere des Allicins in underivatisierter Form nicht an einer Chirasil-Val-Kapillare getrennt werden können.

8. Diastereomerentrennung chiraler Sulfite am Beispiel des 4-Phenyl-1,3,2-dioxathiolan-S-oxids

Vom sterischen Standpunkt aus ist die Umsetzung von chiralen Glykolen mit Thionylchlorid von besonderem Interesse. Der achirale Schwefel des Thionylchlorids wird durch die Ringbildung zum Asymmetriezentrum, und die Enantiomere des vormaligen Glykols können nun als diastereomere Sulfite getrennt werden. Von der ersten Darstellung eines chiralen Sulfits wurde 1952 berichtet. Herzig und

Ehrenstein erhielten durch Umsetzung von 3-β-5,19-Trihydroxycholansäureethylester mit Thionylchlorid die entsprechenden diastereomeren Sulfite (140). In der Folgezeit wurden mehrere Darstellungen chiraler Sulfite der allgemeinen Form



aus Thionylchlorid und chiralen Glykolen beschrieben (141-145).
In dieser Arbeit wird die Umsetzung von Phenylethylenglykol mit Thionylchlorid und der gaschromatographische Nachweis der resultierenden Isomere vorgenommen. Das Egebnis ist in Fig.72 dargestellt.

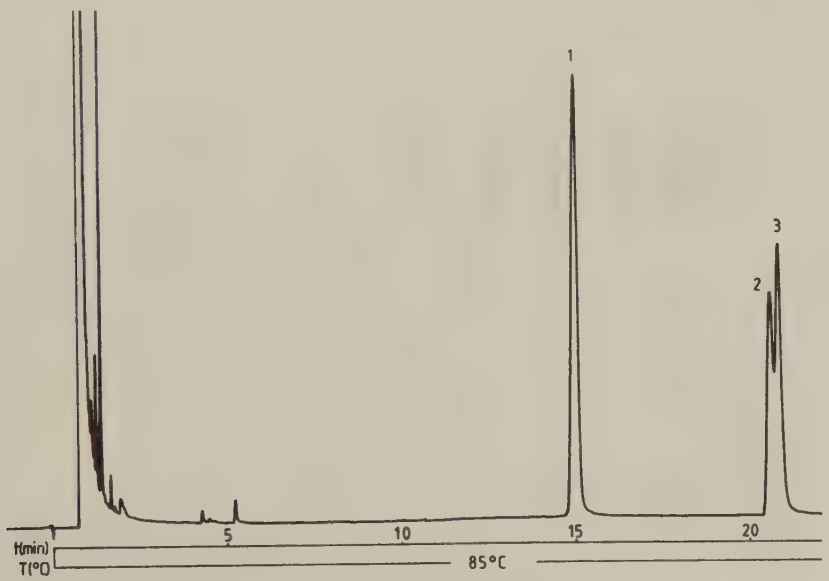


Fig.72: Gaschromatographischer Nachweis der Isomere von 4-Phenyl-1,3,2-dioxathiolan-S-oxid
Säule: 20 m Kapillare mit Chirasil-Val belegt
p_i=0,4 kg/cm² H_2; T = 85°C isotherm

Anstelle der erwarteten vier Peaks erhält man lediglich drei. Das Intensitätsverhältnis deutet darauf hin, daß es zu einer Überlagerung von zwei Isomeren im ersten Peak gekommen ist. Die Trennung läßt allerdings vermuten, daß für andere chirale Glykole eine Auftrennung aller Sulfitisomere möglich sein wird. Fig.73 zeigt das Massenspektrum des in Fig.72 dargestellten Cyclus.

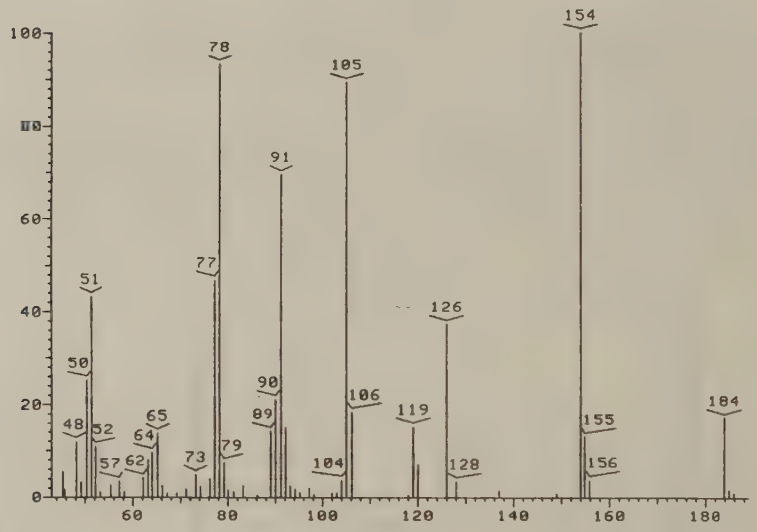


Fig.73: Massenspektrum von 4-Phenyl-1,3,2-dioxathiolan-S-oxid

Zuordnung der wichtigsten m/e-Signale des Massenspektrums aus Fig.73:

184: M^+

154: C_6H_5-CH-O-S=O

91: CH-CH_2-O-S=O

78: H_2C-O-S=O

77: C_6H_5-, CH-O-S=O

IV. Enantiomerentrennung und gaschromatographischer Nachweis schwefelhaltiger Aminosäuren

1. Gaschromatographische Enantiomerentrennung von Lanthionin, Cystathionin und Allocystathionin an Chirasil-Val

Schwefelhaltige Aminosäuren besitzen für biochemische Reaktionen und als Bausteine von Biopolymeren eine besondere Bedeutung (146). Während Cystein, Cystin und Methionin eine breite Anwendung gefunden haben, sind Aminosäuren wie Lanthionin, Cystathionin, Allocystathionin, Djenkolsäure und Felinin nur in wenige Untersuchungen mit einbezogen worden.
In diesem Kapitel soll die Enantiomerentrennung von Lanthionin, Cystathionin und Allocystathionin an Chirasil-Val beschrieben werden. Die Trennung von D,L-Cystin an Chirasil-Val ist bereits durch Nicholson erfolgt (151).
Lanthionin wurde erstmals von du Vigneaud und Brown (147) synthetisiert; seine Bedeutung für biologisch aktive Verbindungen wie Nisin (148) ist ebenfalls bekannt. Dagegen wurde die zentrale Rolle des Cystathionins beim Schwefelstoffwechsel relativ spät erkannt (149, 150). So erhält man bei der Kondensation von L-Homocystein und L-Serin das entsprechende L-Cystathionin, dessen Hydrolyse allerdings L-Homoserin und L-Cystein liefert. Fig.74 gibt die Struktur von L-Lanthionin, L-Cystathionin und L-Allocystathionin sowie den Zusammenhang mit L-Cystein und L-Cystin wieder.

Für die gaschromatographische Enantiomerentrennung werden wegen der besseren Flüchtigkeit die PFP/Methylester dargestellt. Das Ergebnis der Trennung von D,L-Lanthionin (einschließlich der meso-Form), D,L-Cystathionin und D,L-Allocystathionin ist in Fig.75 festgehalten.

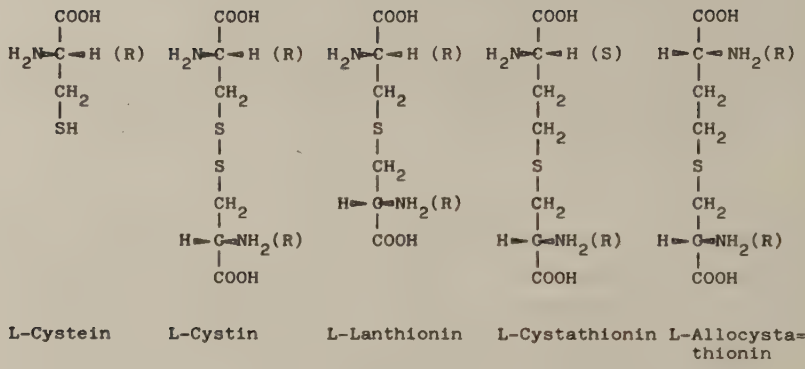


Fig.74: Struktur und absolute Konfiguration schwefelhaltiger Aminosäuren

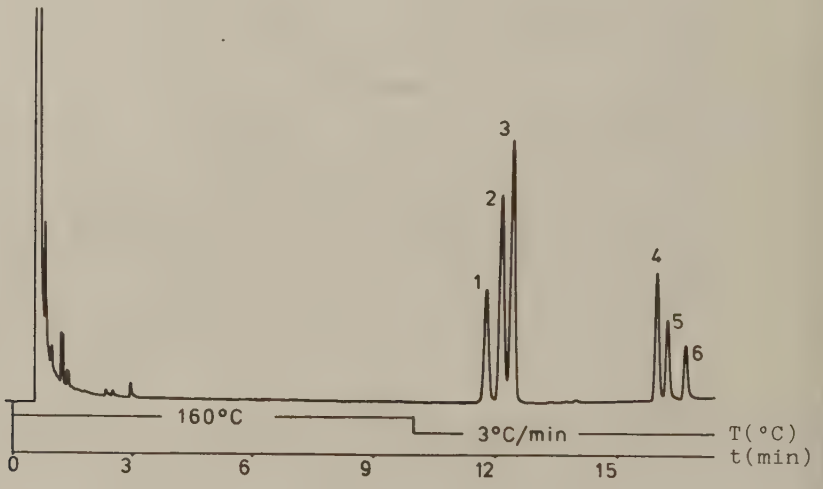


Fig.75: Enantiomerentrennung schwefelhaltiger Aminosäuren an Chirasil-Val; 1 = D-Lanthionin, 2 = meso-Lanthionin, 3 = L-Lanthionin, 4 = D-Cystathionin und L-Allocystathionin, 5 = D-Allocystathionin und 6 = L-Cystathionin
Derivate: PFP/Methylester
p_i = 0,4 kg/cm² H_2; T = 160/10/3/180°C

Die Elutionsreihenfolge von α-Aminosäuren an einer Chirasil-L-Val-Kapillare (D vor L) wird von Lanthionin und Cystathionin eingehalten. Die meso-Form findet man folgerichtig zwischen D- und L-Enantiomer.Beim Allocystathionin allerdings kehrt sich die Elutionsfolge um. Hier eluiert die L-Form vor der D-Form. Die Massenspektren des Lanthionin- und Cystathioninderivates sind in Fig.76 bzw. 77 wiedergegeben.

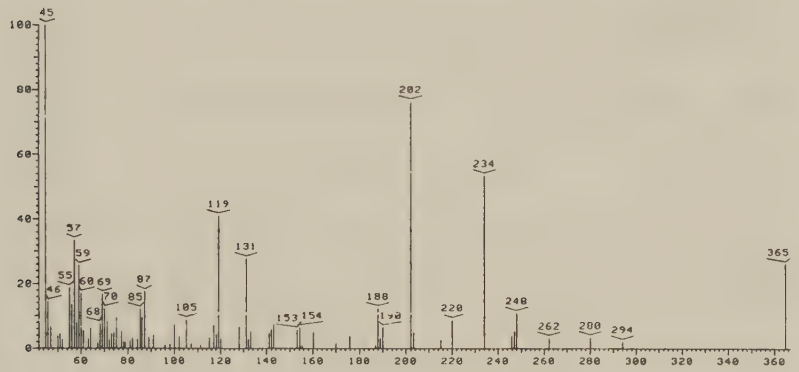
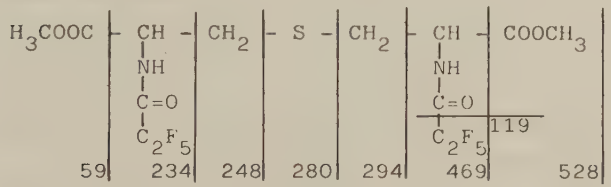
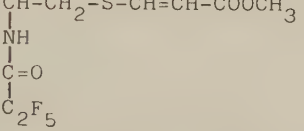


Fig.76: Massenspektrum von Lanthionin-PFP/methylester

Zuordnung der wichtigsten m/e-Signale des Massenspektrums aus Fig.76:



365: McLafferty-Umlagerung 

202: McLafferty-Umlagerung

(vgl.365)

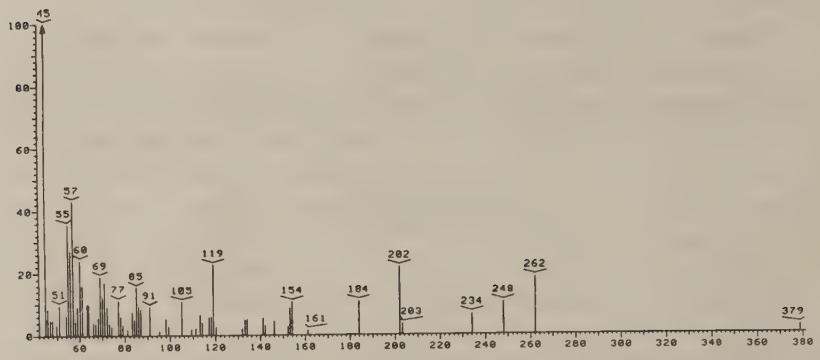


Fig.77: Massenspektrum von Cystathionin-PFP/methylester

Zuordnung der wichtigsten m/e-Signale des Massenspektrums aus Fig.77:
m/e= 119, 234, 248 und 262 enspricht denselben Fragmenten wie in Fig.76.
m/e= 379 (entspricht 365 aus Fig.76 + 14($-CH_2-$))

2. Gaschromatographischer Nachweis von S-(Alkylmercapto-) cysteinen

Die Synthese von S-(Alkylmercapto)cysteinen ist für den Peptidchemiker von besonderer Bedeutung. Während die Verbindungen bei Peptidsynthesebedingungen noch stabil sein müssen, sollen die S-Schutzgruppen durch oxydative Sulfitolyse oder durch Behandlung mit Mercaptoethanol in schonender Weise wieder abgespalten werden können (152).
Im folgenden sollen einige S-(Alkylmercapto)cysteine gaschromatographisch und massenspektroskopisch bestimmt werden. Der allgemeine Syntheseweg für diese Verbindungen wird von Weber und Hartter beschrieben (152). Die Derivatisierung muß im Vergleich zur normalen Aminosäurederivatisierung schonender durchgeführt werden, da anderenfalls Zersetzung beobachtet wird. Fig.78 zeigt das Chromatogramm von 11 S-(R'-mercapto)-L-cysteinen, die als PFP/methylester getrennt werden.

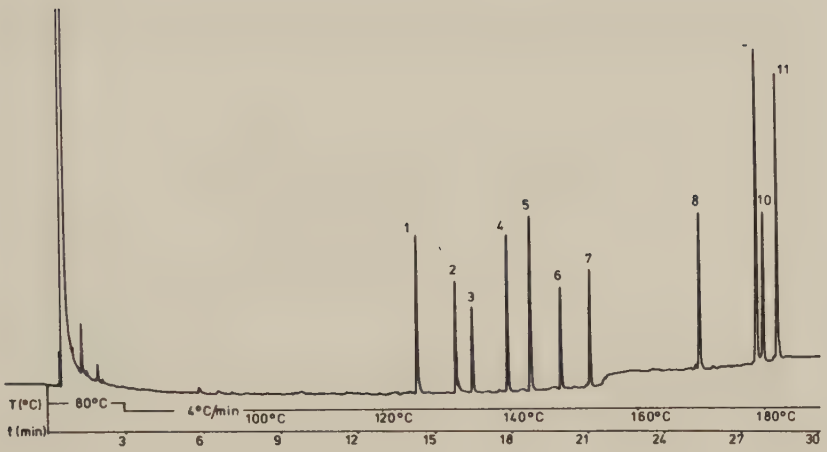
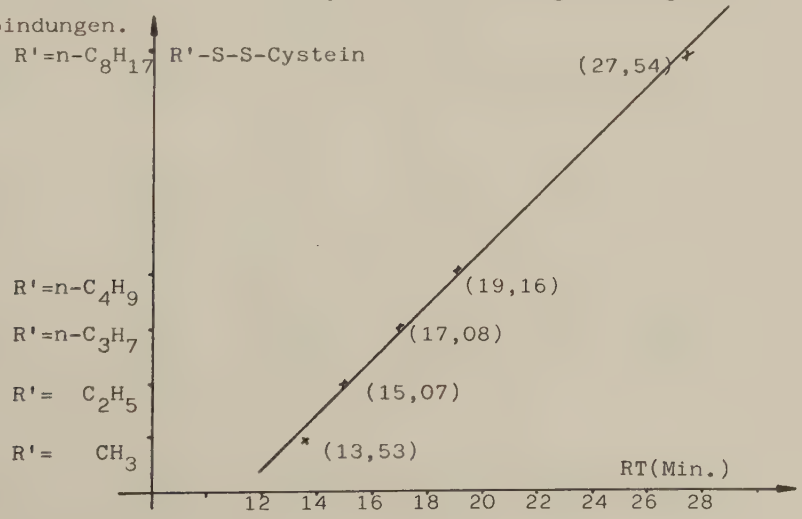
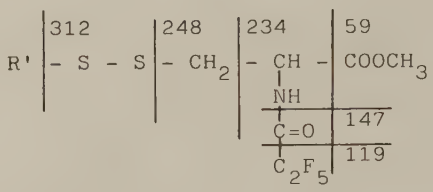


Fig.78: Gaschromatographische Trennung von S-(R'-mercapto)-cysteinen mit R'= 1 = Methyl, 2 = Ethyl, 3 = i-Propyl, 4 = n-Propyl, 5 = sek.-Butyl, 6 = n-Butyl, 7 = Neopentyl, 8 = Cyclhexyl, 9 = Tolyl, 10 = Benzyl und 11 = Oktyl
Derivate: PFP/methylester
p_i= 0,4 kg/cm² H_2; T = 80/3/4/200°C

Man erkennt sehr schön den linearen Zusammenhang zwischen Nettoretentionszeit und Alkylrest der in Fig.78 dargestellten Verbindungen.



Massenspektreninterpretation der S-(R'-mercapto)cystein-PFP/methylester:



Gemeinsam ist allen Verbindungen das ausgeprägte Vorhandensein des Molekülions M^+. Da alle Moleküle den gleichen derivatisierten Cysteinrest besitzen und die S-C-Bindung die schwächste im Molekül darstellt, findet man in allen Massenspektren das hierfür charakteristische Fragment m/e= 248 (in der Regel das intensivste Signal). Desweiteren sind folgende Fragmente für alle Verbindungen typisch und ausgeprägt:
m/e= 189 (=248-59); 59 = α-Spaltung des Carboxymethylesters.
m/e= 119 und 147 als Folge der Acylierung mit PFPA.
Konsequenterweise findet man, da M^+ und m/e= 248 intensiv vertreten sind, auch R' = M^+ - 312. Für R'= Benzyl oder Tolyl erhält man wegen des aromatischen Systems $C_7H_7^+$ m/e= 91 sogar als intensivstes Fragment. Stellvertretend für alle Verbindungen steht das Massenspektrum von S-(i-Propylmercapto)cystein-PFP/methylester (Fig.79); die restlichen Massenspektren werden tabellarisch wiedergegeben.

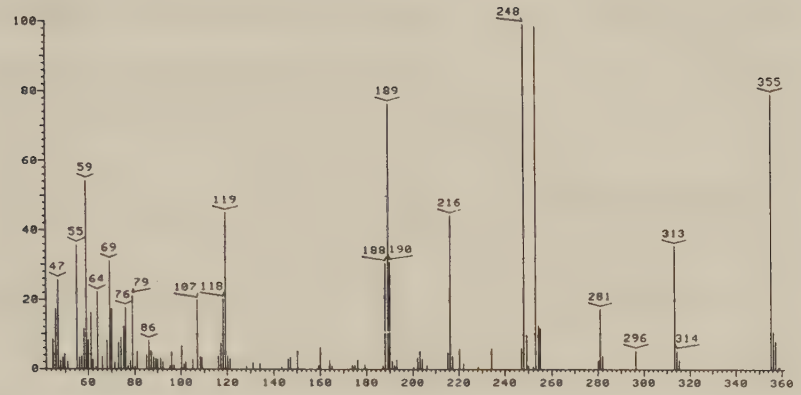


Fig.79: Massenspektrum von S-(i-Propylmercapto)cystein-PFP/methylester

Massenspektren der R'-S-S-cystein-PFP/methylester

R'	M^+	Fragmente nach fallender Intensität (%)
CH_3	327	248(100), 327(58), 79(43), 188(37), 93(32), 47(28), 117(25), 220(23), 59(21), 46(20)
C_2H_5	341	248(100), 341(52), 117(32), 79(29), 119(28), 188(22), 59(20), 93(19), 107(26), 189(12)
i-C_3H_7	355	248(100), 253(99), 355(80), 189(76), 59(54), 119(44), 216(43), 55(36), 313(34), 69(31)
n-C_3H_7	355	248(100), 355(38), 73(37), 188(27), 59(21), 45(18), 55(16), 119(15), 47(15), 189(13)
s-C_4H_9	369	57(100), 253(43), 248(39), 55(29), 189(24), 216(22), 369(21), 59(19), 119(17), 56(16)

R'	M^+	Fragmente nach fallender Intensität (%)
$n\text{-}C_4H_9$	369	248(100), 369(56), 87(40), 57(36), 119(30), 55(25), 188(23), 79(20), 56(18), 59(18)
Neopentyl	383	248(100), 383(70), 71(59), 55(36), 101(19), 119(16), 188(15), 59(14), 70(13), 69(12)
Cyclohexyl	395	55(100), 83(68), 248(28), 313(27), 253(22), 67(20), 54(17), 45(16), 395(13), 59(12)
Tolyl	403	248(100), 91(90), 403(86), 123(71), 124(50), 45(42), 105(31), 188(29), 92(28), 59(24)
Benzyl	403	91(100), 45(10), 92(8), 65(5), 55(4), 403(3), 59(2), 63(2), 70(2), 77(2)
$n\text{-}C_8H_{17}$	425	248(100), 55(40), 57(38), 71(38), 425(36), 69(25), 56(19), 58(19), 70(19), 253(12)

B) EXPERIMENTELLER TEIL

1. Geräte und Instrumente

Gaschromatographie:	Carlo Erba Fractovap 2101 und 2150 Dani 3900, alle Geräte mit Flammenionisations-detektor und Wasserstoff als Trägergas
Integratoren:	Spectra Physics System 1 Spectra Physics 4270 Trilab Model II Hewlett Packard 3390 A
NMR-Spektroskopie:	Bruker WH 90
IR-Spektroskopie:	Perkin-Elmer Infracord
Elementaranalysen:	Carlo Erba Mod. 1104
Massenspektrometrie:	Varian Mat 711
GC/MS:	Varian Mat 112 S

Schmelzpunktbestimmungsapparatur nach Tottoli Typ SMP 20 der Firma Büchi

Microdosimat mit pH-Meter E 512, Impulsomat E 473 der Firma Metrohm

Fraktionssammler LKB Ultrorac mit optischer Einheit Uvicord I und Uvicord III

2. Chemikalien und Reagenzien

Methylenchlorid wird über Kaliumcarbonat destilliert.

Diethylether wird über Natriumdispersion in Paraffin absolutiert und destilliert.

DMF wird durch azeotrope Destillation (1 l DMF, 120 ml Benzol, 50 ml Wasser) vorgetrocknet und über Calciumhydrid destilliert.

Essigester und Eisessig werden über Phosphorpentoxid getrocknet und destilliert.

1,2 N Salzsäure in Eisessig wird durch Einleiten von gasförmiger Salzsäure in trockenen Eisessig hergestellt.

Sephadex LH 20 stammt von der Firma Pharmacia.

Zur Dünnschichtchromatographie werden Kieselgelfertigplatten $^{60}F_{254}$ der Firma Merck verwendet.

Zur dünnschichtchromatographischen Identifizierung wird mit Ninhydrinlösung (153, 154) oder mit Chlor/Tolidin (155, 156) angefärbt.

4 N Salzsäure in n-Propanol wird durch Zugabe der entsprechenden Menge Acetylchlorid zum Alkohol hergestellt (157).

3. Synthesen zum Kapitel A.I.

Nachstehende Substanzen werden nach den folgenden Autoren und den in Klammer stehenden Literaturstellen synthetisiert:

BOC-Azid: L.Carpino (158)

BOC-Val: E.Schnabel (159)

Oktamethylcyclotetrasiloxan: W.Patnode, D.F.Wilcock (56)

Hexamethyldisiloxan: R.O.Sauer (160)

γ-(Dichlormethylsilyl)-butyronitril: J.L.Speier et. al. (46)

β-(Dichlormethylsilyl)-α-methylpropionsäuremethylester: J.L.Speier et. al. (46)

β-(Dichlormethylsilyl)-α-methylpropionitril: B.A.Bluestein (47)

Vinylessigsäure: E.Rietz (161)

Vinylessigsäuremethylester: E.J. Corey (162)

BOC-L-Val-t-butylamid

260,7 g BOC-Val (= 1,2 Mol) und 800 ml Methylenchlorid werden in einem 2 l Dreihalskolben (Stopfen, KPG-Rührer, Tropftrichter) in einer Eis/Kochsalz-Mischung gekühlt. Danach gibt man innerhalb 15 Minuten unter Rühren langsam 610 ml 2-molare DCC-Methylenchloridlösung zu. In einem Zeitraum von etwa 30 Minuten tropft man dann 1,3 Mol Tert.-Butylamin in die Lösung. Nach 3 Stunden verdünnt man mit Methylenchlorid und filtriert vom ausgefallenen Dicyclohexylharnstoff ab. Das Lösungsmittel wird abgezogen und der Rückstand in ca. 1-1,5 l Essigester solange unter Rückfluß erhitzt, bis sich das Produkt vollständig gelöst hat. Nach Stehenlassen über Nacht im Kühlschrank saugt man

das ausgefallene kristalline Material ab, engt die Mutterlauge auf ca. 600 ml ein und fügt ca. 350 ml Petrolether 30/50 zu. Nach 3 Stunden Kühlung im Kühlschrank saugt man erneut ausgefallenes Produkt ab. Die vereinigten Produkte werden aus Methylenchlorid/Petrolether umkristallisiert und anschließend im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 241,5 g (= 74 % der Theorie)
Fp = 193°C (Lit.(33): 193-195°C)

L-Val-t-butylamid x HCl

160 g BOC-L-Val-t-butylamid (= 0,59 Mol) werden in 700 ml 1,2 N HCl/Eisessig bei Raumtemperatur 2 Stunden gerührt. Das Lösungsmittel wird zuerst am Rotationsverdampfer, dann mit einer Ölpumpe entfernt. Im Exsikator wird bei 0,1 Torr über Natronlauge restliche Essigsäure entfernt. Zum Rückstand gibt man 500 ml Ether, saugt die Kristalle ab und wäscht sie mit Ether. Die Mutterlauge wird zur Trockene eingeengt und der Rückstand nochmals in Ether aufgenommen. Man kühlt auf 0°C ab und saugt erneut ausgefallenes Produkt ab. Die vereinigten Rohprodukte werden aus Essigester oder wenig Ethanol und Essigester umkristallisiert.

Ausbeute: 105 g (= 85,4 % der Theorie)

(Die Abspaltung der Schutzgruppe wird gaschromatographisch kontrolliert. Es zeigt sich, daß eine quantitative Entfernung der BOC-Gruppe nicht erreicht wird. Etwa 5 - 10 % des geschützten Valinderivates bleibt unverändert.)

Fp = 225-227°C (Lit.(33): 228-230°C)

γ-(Dichlormethylsilyl)-buttersäuremethylester

18,2 g Vinylessigsäuremethylester (= 0,18 Mol) werden mit ca. 5 Tropfen Hexachloroplatinsäure in Isopropanol auf 80°C erwärmt. Anschließend gibt man über einen Tropftrichter langsam 21 g Dichlormethylsilan (= 0,18 Mol) so zu, daß die Innentemperatur 105°C nicht überschreitet. Nach weiteren

2 Stunden ist die Reaktion beendet, und das Produkt wird bei 95,5-96°C/11 Torr abdestilliert.

Ausbeute: 29,03 g (= 76 % der Theorie)

Poly-(γ-methylsiloxy-butyronitril)
Poly-(β-methylsiloxy-α-methyl-propionsäuremethylester)
Poly-(β-methylsiloxy-α-methyl-propionitril)
Poly-(γ-methylsiloxy-buttersäuremethylester)

1 Mol des betreffenden Dichlorsilans wird in 500 ml Benzol gelöst und unter Rühren zu einer Mischung aus 1200 g Eis und 600 ml Wasser zugetropft. Es entsteht ein schneeweißer salbenartiger Niederschlag. Dieser wird mit 500 ml Ether in Lösung gebracht. Die wässrige Phase wird noch zweimal mit je 200 ml Ether extrahiert und die vereinigten Etherextrakte über Natriumsulfat getrocknet. Anschließend wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen, letzte Reste bei 40°C/0,01 Torr. Die Produkte fallen in 80-90%-iger Ausbeute als zähe Öle an.

IR-Spektren der Polymere mit Nitrilgruppen:
2940 cm^{-1}, 2878 cm^{-1} CH_2-, CH_3-Valenzschwingung
2242 cm^{-1} CN-Schwingung
1260 cm^{-1} $Si-CH_3$
1110-1000 cm^{-1} Doppelbande Si-O-Si

IR-Spektren der Polymere mit Methylestergruppen:
wie oben, aber statt Nitrilschwingung erhält man eine Carbonylschwingung bei 1745 cm^{-1}.

Poly-(γ-methylsiloxybuttersäure)

Methode I

52 g Poly-(γ-methylsiloxy-butyronitril) werden mit 83 g Natiumhydroxid und 250 ml Wasser solange unter Rückfluß erhitzt, bis mit pH-Papier kein Ammoniak mehr nachweisbar ist. Die Reaktion ist nach ca. 5 Stunden beendet, letzte Ammoniakreste werden mit einem schwachen Stickstoffstrom ausgetrieben. Danach wird das Reaktionsgemisch vorsichtig in eine Lösung aus 130 ml konzentrierter Schwefelsäure und 1 l Wasser gegossen. Nach Stehenlassen über Nacht wird das abgesetzte Öl solange mit Wasser verrieben, bis in der wässrigen Phase mit Bariumchlorid keine Sulfationen mehr nachweisbar sind. Dann wird das Harz unter Stickstoffspülung eine Stunde auf 180°C erhitzt.

Ausbeute: 54,6 g

Methode II

9 g Poly-(γ-methylsiloxy-buttersäuremethylester) werden mit 6,4 g Kaliumhydroxid, 9 ml Wasser und 18 ml Ethanol 5 Stunden unter Rückfluß erhitzt. Das abgekühlte Reaktionsgemisch wird mit 50 ml Wasser verdünnt und mit halbkonzentrierter Salzsäure auf pH=1 angesäuert. Nach 3 Stunden Stehenlassen wird das abgesetzte Öl solange mit Wasser verrieben, bis in der wässrigen Phase mit Silbernitrat keine Chloridionen mehr nachweisbar sind. Dann wird das Harz unter Stickstoffspülung eine Stunde auf 180°C erhitzt.

Ausbeute: 5,4 g

Elementaranalyse:

Ber.:	C 41,10 %	H 6,85 %	O 32,88 %	Si 19,18 %
Gef.:	C 39,77 %	H 7,62 %	O 33,23 %	Si 19,38 %

Poly-(ß-methylsiloxy-α-methylpropionsäure)

Methode I

1 g Poly-(ß-methylsiloxy-α-methylpropionitril) wird mit 1,7 g Natriumhydroxid und 5 ml Wasser ca. 5 Stunden unter Rückfluß erhitzt, bis mit pH-Papier kein Ammoniak mehr nachweisbar ist. Anschließend wird das abgekühlte Reaktionsgemisch mit halbkonzentrierter Salzsäure auf pH=1 angesäuert. Nach 3 Stunden Stehenlassen wird das abgesetzte Öl solange mit Wasser verrieben, bis in der wässrigen Phase mit Silbernitrat keine Chloridionen mehr nachweisbar sind. Dann wird das Harz unter Stickstoffspülung eine Stunde auf 180°C erhitzt.

Ausbeute: 600 mg

Methode II

50 g Poly-(ß-methylsiloxy-α-methyl-propionsäuremethylester), 500 ml Ethanol und 500 ml Wasser werden in einem 2 l Dreihalskolben (Elektrode, Rückflußkühler, Stopfen) bei pH = 11 auf 50°C erhitzt. Dieser pH-Wert wird mit 4 N Natronlauge (durch den Rückflußkühler) konstant gehalten. Nach vier Wochen säuert man mit Salzsäure auf pH=1,5 an (Kontrolle mit pH-Papier - nicht mit der Elektrode, da freigesetztes Polysiloxan die Elektrode von der Lösung abschirmt) und läßt über Nacht stehen. Die wässrige Lösung wird abgegossen und der harzige Niederschlag solange mit Wasser verrieben, bis im Waschwasser mit Silbernitrat keine Chloridionen mehr nachweisbar sind. Eine NMR-spektroskopische Kontrolle des Produktes beweist, daß noch ca. 45 % Methylestergruppen vorliegen. Daraufhin wird das Produkt mit 30 g Natriumhydroxid und 500 ml Methanol 3 Tage unter Rückfluß erhitzt. Die NMR-spektroskopische Kontrolle einer wie oben beschriebenen, aufgearbeiteten Probe belegt die vollständige Verseifung des Methylesters zur freien Säure.

Ausbeute: 31 g

Elementaranalyse:
Ber.: C 41,10 % H 6,85 % O 32,88 % Si 19,18 %
Gef.: C 36,76 % H 7,26 % O 35,36 % Si 20,62 %

Poly-(γ-methylsiloxy-buttersäure-n-butylamid)

540 mg Poly-(γ-methylsiloxy-buttersäure)werden in 4 ml DMF gelöst und mit 600 mg CDI versetzt. Nach einer Stunde bei Raumtemperatur gibt man zu dieser Mischung 325 mg n-Butylamin. Nach Rühren über Nacht wird das Reaktionsgemisch zweimal mit 10 %-iger Essigsäure gewaschen. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer abgezogen und der Rückstand in 2 ml n-Butanol aufgenommen. Diese Lösung wird durch Gelpermeationschromatographie an LH 20 mit n-Butanol als Laufmittel gereinigt. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer abgezogen, letzte Reste bei 150°C.

Ausbeute: 500 mg

IR-Spektrum:
3215 cm^{-1} N-H-Valenzschwingung
2890 cm^{-1} C-H-Valenzschwingung
1630 cm^{-1} Amidbande I
1538 cm^{-1} Amidbande II
1256 cm^{-1} $Si-CH_3$
1110 - 1000 cm^{-1} Si-O-Si (Doppelbande)

Poly-(γ -methylsiloxy-buttersäure)-Copolymer 1:5, 100 % Methylgruppen

Methode I

2,3 g Poly-(γ -methylsiloxy-buttersäure), 5,85 g Oktamethylcyclotetrasiloxan, 0,28 g Hexamethyldisiloxan und 0,42 ml konzentrierte Schwefelsäure werden in einem fest verschlossenen Rundkolben heftig geschüttelt. Nach etwa 10 Stunden hat das Gemisch eine höhere Viskosität. Nun wird der Kolben noch ca. 3 Wochen so schnell gedreht, daß das viskose Öl an der Kolbenwand entlang fließt. Die Reaktion ist beendet, wenn kein Ausgangsprodukt mehr erkennbar ist. Dann versetzt man das Gemisch mit 3 ml Wasser und dreht weitere 3 Stunden. Anschließend werden die Phasen durch Zentrifugieren getrennt und die wässrige Phase verworfen. Das Polysiloxan wird mit dem gleichen Volumen Ether verdünnt und mit jeweils 1 ml Wasser extrahiert, bis in der wässrigen Phase mit Bariumchlorid keine Sulfationen mehr nachweisbar sind. Der Ether wird abgedampft und das Harz unter Stickstoffspülung eine Stunde auf 180°C erhitzt.

Ausbeute: 6,2 g IR-Spektrum: Fig.24b
^{1}H-NMR-Spektrum: Fig.25a

Poly-(β -methylsiloxy- α -methyl-propionsäure)-Copolymer 1:6, 100 % Methylgruppen

Methode II

1,46 g Poly-(β -methylsiloxy- α -methylpropionsäure) werden mit 7,74 g Dichlordimethylsilan, 0,27 g Hexamethyldisiloxan und 0,1 ml konzentrierter Schwefelsäure solange unter Rühren auf 40°C erhitzt, bis eine homogene Lösung vorliegt. Darauf gibt man im Verlauf von etwa 30 Minuten langsam 1,1 g Wasser zu. Nach Beendigung der Wasserzugabe wird das Reaktionsgemisch noch zwei Stunden bei 110°C gerührt, um die Äquilibrierungsreaktion zu vollenden. Das Reaktionsgemisch wird abgekühlt, in Ether oder Methylenchlorid aufgenommen

und mit Wasser chloridfrei gewaschen. Das Lösungsmittel wird anschließend im Vakuum abgezogen, zum Schluß bei 100°C/12 Torr. Es resultiert ein klares, bei Raumtemperatur zähflüssiges Harz.

Ausbeute: 5,5 g IR-Spektrum: Fig.24a
^{1}H-NMR-Spektrum: Fig.25b

Chirasil-Val AC 1:7 a

350 mg Poly-(γ -methylsiloxy-buttersäure)-Copolymer 1:7, 100 % Methylgruppen, werden in 2 ml DMF und 2 ml Methylenchlorid gelöst und bei Raumtemperatur zuerst mit 200 mg DCC, darauf mit 210 mg L-Val-t-butylamid x HCl versetzt. Während der folgenden zwei Stunden wird das Reaktionsgemisch durch Zugabe von 0,15 ml N-Methylmorpholin schwach alkalisch gehalten. Nach 24 Stunden Rühren bei Raumtemperatur wird das Reaktionsgemisch dreimal mit 10 %-iger Essigsäure gewaschen. Die Lösungsmittel werden am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand in wenig n-Butanol aufgenommen. Man filtriert von ausgefallenem Dicyclohexylharnstoff ab und reinigt das Filtrat durch Gelpermeationschromatographie an LH 20 mit n-Butanol als Laufmittel.

Ausbeute: 350 mg IR-Spektrum: Fig.8a
(identisch mit Chirasil-Val VE)

Chirasil-Val MM 1:7 b

350 mg Poly-(β -methylsiloxy- α -methyl-propionsäure)-Copolymer 1:7, 100 % Methylgruppen, werden in 3 ml Methylenchlorid gelöst und mit 110 mg CDI versetzt. Nach einer Stunde Rühren bei Raumtemperatur werden 200 mg L-Val-t-butylamid x HCl zugegeben und das Gemisch 20 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wird dreimal mit 10 %-iger Essigsäure gewaschen. Das Lösungsmittel der organischen Phase wird am Rotationsverdampfer entfernt, der Rückstand in 2 ml n-Butanol aufgenommen und durch Gelpermeationschromatographie an LH 20 mit n-Butanol als Lauf-

mittel gereinigt.

Ausbeute: 350 mg IR-Spektrum: Fig.27

Derivatisierung: Aminosäure-PFP/n-propylester

0,3 mg Aminosäuren werden in 1 ml 4 N Salzsäure in n-Propanol auf 110°C erhitzt. Nach 30 Minuten wird das Lösungsmittel unter einem leichten Stickstoffstrom abgedampft und der Rückstand in 0,25 ml Methylenchlorid aufgenommen. Nach Zugabe von 0,07 ml PFP-Anhydrid wird 10 Minuten auf 160°C erhitzt und das Reaktionsgemisch nach dem Abkühlen wieder eingeengt. Der Rückstand wird in Methylenchlorid gelöst und ohne weitere Reinigung eingesetzt.

4. Synthesen zum Kapitel A.II.

Chlordimethylsilylbutyronitril

13,42 g Allylcyanid (= 0,2 Mol) und ca. 4 Tropfen Hexachloroplatinsäure in Isopropanol werden bei 80°C unter Rückfluß erhitzt. Anschließend tropft man langsam 18,9 g Chlordimethylsilan (= 0,2 Mol) so zu, daß die Innentemperatur 105°C nicht übersteigt. Nachdem alles Chlordimethylsilan zugetropft ist, läßt man noch ca. 30 Minuten rühren und destilliert dann das Produkt bei 90°C/12 Torr ab. Man erhält ein farbloses Gemisch bestehend aus
96,6 % Chlordimethylsilylbutyronitril und
3,4 % Chlordimethylsilyl-(β-methyl-propionitril),
das destillativ nicht zu trennen ist.

Ausbeute: 25,3 g (= 78 % der Theorie)

Chlordimethylsilyl- α-methyl-propionsäuremethylester

11 g frisch destillierter Methacrylsäuremethylester (= 0,11 Mol) und 4 Tropfen Hexachloroplatinsäure in Isopropanol werden bei 100°C unter Rückfluß erhitzt. Anschließend tropft man langsam 10 g Chlordimethylsilan (= 0,11 Mol) so zu, daß die Innentemperatur 115°C nicht überschreitet (bei Temperaturen unter 100°C wird keine Reaktion beobachtet). Nachdem alles Chlordimethylsilan zugetropft ist, läßt man noch ca. 30 Minuten rühren und destilliert dann das Produkt bei 81°C/14 Torr ab.

Ausbeute: 15,75 g (= 75 % der Theorie)

α,ω -Dibutyronitril-tetramethyldisiloxan

25,3 g Chlordimethylsilylbutyronitril (= 0,16 Mol) werden in 70 ml Benzol gelöst und unter Rühren zu einer Mischung aus 200 g Eis und 100 g Wasser zugetropft. Es entsteht ein schneeweißer salbenartiger Niederschlag. Dieser wird mit Ether in Lösung gebracht. Nach dem Trocknen über Natriumsulfat werden die Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen, letzte Reste bei 100°C/12 Torr. Anschließend wird das Produkt bei 162°C/2 Torr abdestilliert. Man erhält ein Gemisch bestehend aus
93,2 % α,ω -Dibutyronitril-tetramethyldisiloxan und
6,8 % (α,ω -Butyronitril-β-methyl-propionitril)-tetramethyldisiloxan, das destillativ nicht zu trennen ist.

Ausbeute: 15,1 g (= 72 % der Theorie)
Ber.: C 53,73 % H 8,96 % N 10,45 %
Gef.: C 53,38 % H 9,05 % N 10,36 %

GC: Fig.33
MS: Fig.34
IR: Fig.52

α,ω -Di(-α-methyl-propionsäuremethylester)-tetramethyldisiloxan

Die Darstellung erfolgt analog der Synthese von α,ω -Dibutyronitril-tetramethyldisiloxan. Die abschließende Destillation liefert ein Produktgemisch, das von 47 - 117°C bei 0,03 Torr übergeht. Die gaschromatographische Analyse zeigt, daß neben der Bildung von α,ω -Di(α-methyl-propionsäuremethylester)-tetramethyldisiloxan die nächsthöheren Homologe (α,ω -Di(α-methyl-propionsäuremethylester)-hexamethyltrisiloxan, α,ω -Di(α-methyl-propionsäuremethylester)-octamethyltetrasiloxan usw.) entstanden sind.

Ausbeute: 64 % der Theorie

α,ω -Dibuttersäure-tetramethyldisiloxan

1o g α,ω -Dibutyronitril-tetramethyldisiloxan werden mit 16 g Natriumhydroxid, 50 ml Wasser und 15 ml Ethanol 24 Stunden unter Rückfluß erhitzt. Eine gaschromatographische

Kontrolle*) ergibt, daß keine Nitrilgruppen mehr vorhanden sind. Daraufhin wird das Ethanol am Rotationsverdampfer abgezogen und die verbleibende Lösung auf die Hälfte des ursprünglichen Volumens eingeengt. Danach wird nochmals 2,5 Stunden unter Rückfluß erhitzt. Die gaschromatographische Kontrolle*) ergibt, daß jetzt nur noch 0,5 % α,ω -(Buttersäuremethylester-buttersäureethylester)-tetramethyldisiloxan vorliegen. Die Lösung wird mit 50 ml Wasser verdünnt und unter Rühren langsam mit halbkonzentrierter Schwefelsäure angesäuert (pH=1). Das über Nacht abgeschiedene α,ω -Dibuttersäure-tetramethyldisiloxan wird mit Ether extrahiert und solange mit Wasser gewaschen, bis mit Bariumchlorid keine Sulfationen mehr nachweisbar sind. Danach wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt, letzte Reste bei 100°C/12 Torr. Verunreinigungen werden durch Zentrifugieren entfernt.

Ausbeute: 10,5 g (= 92 % der Theorie)

*) Durch Veresterung der Carboxygruppen mit Diazomethan zum entsprechenden Methylester wird α,ω -Dibuttersäure-tetramethyldisiloxan der gaschromatographischen Analyse zugänglich gemacht. In einem kleinen Glaskolben löst man 3 µl α,ω -Dibuttersäure-tetramethyldisiloxan in einigen Tropfen Methanol und leitet unter Eiskühlung solange etherische Diazomethanlösung ein, bis sich eine leichte Gelbfärbung einstellt. Man läßt noch ca. 5 Minuten bei Raumtemperatur stehen und entfernt dann die Lösungsmittel durch Abblasen mit Stickstoff. Man nimmt in Methylenchlorid auf und kann den Methylester gaschromatographisch bestimmen. Die etherische Diazomethanlösung wird wie folgt hergestellt: Eine Spatelspitze N-Methyl-N-nitroso-p-toluolsulfonamid wird in ca. 1 ml Ether gelöst und mit Eis gekühlt. Eine Lösung aus 0,4 g Kaliumhydroxid in 10 ml 96 %-igem Ethanol wird solange zugetropft, bis eine klare Lösung entsteht. Nach ca. 5 Minuten wird das Reaktionsgefäß in 50-60°C

heißes Wasser getaucht, wobei die etherische Diazomethanlösung entweicht und mittels einer Teflon-Schlauchleitung in die Disiloxan-Lösung eingeleitet wird.

Ber.: C 47,06 % H 8,50 % O 26,14 % Si 18,30 %
Gef.: C 44,22 % H 8,63 % O 27,73 % Si 19,42 %

α,ω-Di(α-methyl-propionsäure)-tetramethyldisiloxan

4 g α,ω-Di(α-methyl-propionsäuremethylester)-tetramethyldisiloxan werden mit 5 g Natriumhydroxid und 30 ml Wasser 3 Tage lang unter Rückfluß erhitzt. Danach wird mit 30 ml Wasser verdünnt und mit halbkonzentrierter Schwefelsäure angesäuert. Das ausgeschiedene α,ω-Di(α-methyl-propionsäure)-tetramethyldisiloxan wird mit Ether extrahiert und solange mit Wasser gewaschen, bis mit Bariumchlorid keine Sulfationen mehr nachweisbar sind. Anschließend wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen.

Ausbeute: 2,2 g (60,4 % der Theorie)

Die Verseifung des Methylesters wird durch Veresterung der Carboxygruppen mit MSTFA gaschromatographisch kontrolliert. Es zeigt sich, daß bei vollständiger Verseifung nur noch ca. 40 % des eingesetzten Disiloxans vorhanden sind. Die restlichen 60 % findet man in Form der nächsthöheren Homologe (Trisiloxan, Tetrasiloxan usw.).

0,3 mg α,ω-Di(α-methyl-propionsäure)-tetramethyldisiloxan werden mit 0,3 ml MSTFA 30 Minuten bei 60°C erhitzt. Nach dem Abkühlenlassen wird die Lösung direkt gaschromatographisch analysiert (siehe Fig.80).

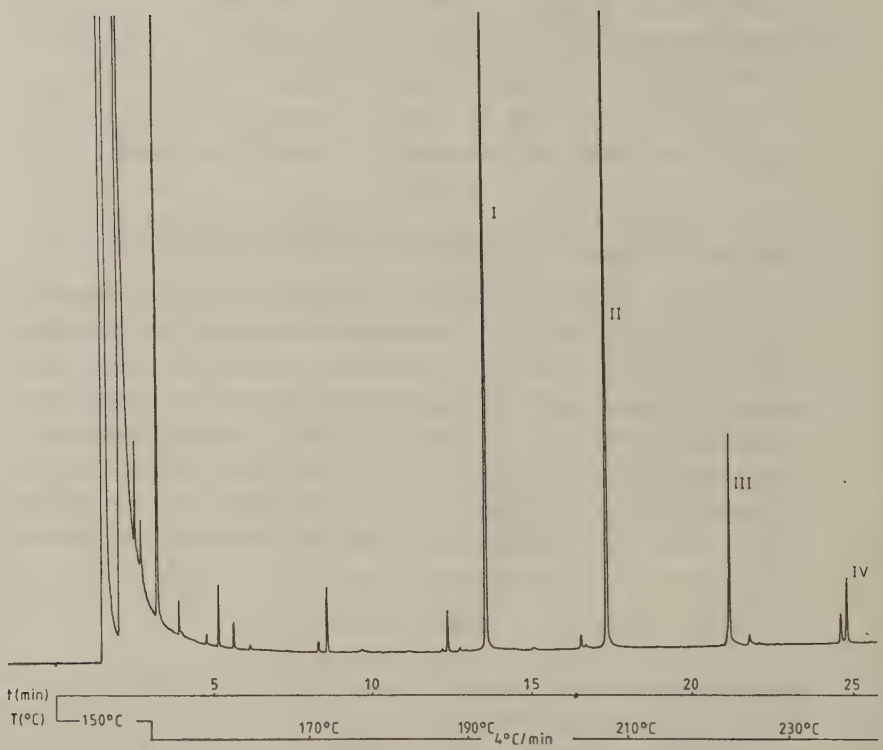


Fig.80: GC nach der Verseifung von α,ω-Di(α-methyl-propionsäuremethylester)-tetramethyldisiloxan mit Natriumhydroxid (die Carboxygruppen sind mit MSTFA verestert)

p_i = 0,7 kg/cm² H_2; T = 150/3/4/290°C

I = α,ω-Di(α-methyl-propionsäure-TMSE)-tetramethyldisiloxan

II = α,ω-Di(α-methyl-propionsäure-TMSE)-hexamethyltrisiloxan

III = α,ω-Di(α-methyl-propionsäure-TMSE)-octamethyltetrasiloxan

IV = α,ω-Di(α-methyl-propionsäure-TMSE)-decamethylpentasiloxan

wobei TMSE für Trimethylsilylester steht

Polydimethylsiloxy-$\overline{5}$- α,ω -dibuttersäure

Polydimethylsiloxy-$\overline{10}$- α,ω -dibuttersäure Methode I

2,047 g α,ω -Dibuttersäure-tetramethyldisiloxan (= 3,3 mMol) werden mit 1,29 g bzw. 3,44 g Dichlordimethylsilan (= 10 bzw. 26,65 mMol) und 0,05 ml konzentrierter H_2SO_4 unter Rühren auf 40°C erhitzt. Zu dieser Mischung gibt man im Verlauf von ca. 30 Minuten langsam 0,183 g bzw. 0,486 g Wasser in 100 µl Portionen zu. Nach Beendigung der Wasserzugabe wird noch 2 Stunden bei 110°C gerührt, um die Äquilibrierungsreaktion zu vollenden. Das Reaktionsgemisch wird abgekühlt, in Methylenchlorid aufgenommen und mit Wasser chloridfrei gewaschen. Anschließend wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen, letzte Reste bei 100°C/12 Torr. Es resultieren jeweils klare, leicht viskose Flüssigkeiten.

Ausbeute: 2,34 g bzw. 3,33 IR-Spektrum: Fig.53

Polydimethylsiloxy-$\overline{10}$- α,ω -dibuttersäure Methode II

0,9 g α,ω -Dibuttersäure-tetramethyldisiloxan, 1,6 g Oktamethylcyclotetrasiloxan und 0,1 ml konzentrierte Schwefelsäure werden 24 Stunden kräftig gerührt. Danach werden 5 ml Wasser zugesetzt und das Siloxan mit 30 ml Ether extrahiert. Die Etherphase wird solange mit Wasser gewaschen, bis mit Bariumchlorid keine Sulfationen mehr nachweisbar sind. Anschließend wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt, letzte Reste bei 100°C/12 Torr.

Ausbeute: 1,7 g Ber.: C 37,42 % H 8,24 %
Gef.: C 33,67 % H 8,33 %

Kupplung von Polydimethylsiloxy-$\overline{5}$- α,ω -dibuttersäure mit L-Val-t-butylamid (Kupplungsreagenz CDI)

500 mg Polydimethylsiloxy-$\overline{5}$- α,ω -dibuttersäure werden in 15 ml Methylenchlorid gelöst und mit 406 mg CDI (= 2,5 mMol)

eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend gibt man 522 mg L-Val-t-butylamid x HCl (= 2,5 mMol) zu und rührt das Ganze 3 Tage lang. Danach werden 20 ml 10 %-ige Essigsäure zugesetzt und nochmals ein Tag gerührt. Nach erfolgter Phasentrennung wird das Methylenchlorid am Rotaionsverdampfer abgezogen. Den Rückstand nimmt man in 5 ml Benzol auf. Verunreinigungen werden durch Zugabe von 50 ml Petrolether 30/50 ausgefällt und abfiltiert. Die Lösungsmittel werden erneut am Rotationsverdampfer entfernt und das Produkt in Pentan aufgenommen. Unlösliche Produkte werden durch Filtration entfernt. Nach Abziehen des Lösungsmittels resultiert somit eine viskose, vollständig pentanlösliche stationäre Phase.

Ausbeute: 737 mg IR-Spektrum: Fig.54

Kupplung von Polydimethylsiloxy-$\overline{10}$- α,ω -dibuttersäure mit L-Val-t-butylamid (Kupplungsreagenz DCC)

750 mg Polydimethylsiloxy-$\overline{10}$- α,ω -dibuttersäure werden in 13 ml Methylenchlorid gelöst und bei Raumtemperatur zuerst mit 1,5 ml 2-molarer DCC-Lösung, darauf mit 750 mg L-Val-t-butylamid x HCl versetzt. Zu Beginn der Reaktion wird die Lösung mit 120 µl N-Methylmorpholin, im Verlauf der nächsten beiden Stunden in mehreren Portionen schwach alkalisch gehalten. Nach 24 Stunden Rühren wird die Lösung mit 20 ml Methylenchlorid verdünnt und mit 30 ml 10 %-iger Essigsäure eine weitere Stunde gerührt. Nach erfolgter Phasentrennung wird das Methylenchlorid am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wird in 3 ml Benzol aufgenommen und Verunreinigungen durch Zugabe von 30 ml Petrolether 30/50 ausgefällt und abfiltriert. Nach Abziehen der Lösungsmittel am Rotationsverdampfer, letzte Reste bei 100°C und 12 Torr, resultiert eine viskose stationäre Phase.

Ausbeute: 960 mg

5. Synthesen zum Kapitel A.III.

Nachstehende Substanzen sind bei den in Klammer stehenden Firmen erhältlich:

D,L-Methionin	(SERVA)
D,L-Methionin-d,l-S-oxid	(EGA)
D,L-2-Methylmethionin	(SCHUCHARDT)
L-Methionin-d,l-sulfoximin	(SERVA)
d,l-Methylsulfinylmethylmethylsulfid	(EGA)
d,l-Phenylisopropylsulfoxid	(ALDRICH)
d,l-Phenylvinylsulfoxid	(EGA)
d,l-Phenylsulfinylessigsäuremethylester	(FLUKA)
d,l-Allicinpuder	(ROTH)
d,l-Phenylethylenglykol	(MERCK-SCHUCHARDT)

Nachstehende Substanzen werden nach den folgenden Autoren und den in Klammer stehenden Literaturstellen synthetisiert:

L-Methionin-d,l-S-oxid	G.Toennies, J.J.Kolb	(112)
L-Methionin-d-S-oxid	T.F.Lavine	(108)
Bromethylphtalimid	N.L.Drake, J.A.Garman	(163, 164)
Phtalimidoethyl-methyl-sulfid	P.Karrer et al.	(129)
β-Aminoethyl-methyl-sulfid	P.Karrer et al.	(129)
d,l- β-Aminoethyl-methyl-sulfoxid	P.Karrer et al.	(129)
d- β -Aminoethyl-methyl-sulfoxid	P.Karrer et al.	(129)

D,L-Methionin-d,l-S-oxid-PFP/n-propylester

D,L-2-Methylmethionin-d,l-S-oxid-PFP/n-propylester

(Asymmetrische Oxidation)

0,3 mg D,L-Methionin bzw. 2-Methylmethionin werden mit 1 ml 4 N HCl in n-Propanol 30 Minuten auf 110°C erhitzt. Danach wird das Lösungsmittel unter einem leichten Stickstoffstrom bei 110°C abgedampft und der Rückstand in 0,25 ml Methylenchlorid aufgenommen. Nach Zugabe von 0,07 ml PFP-Anhydrid wird nochmals 10 Minuten bei 110°C erhitzt. Nach dem Abkühlenlassen wird das Reaktionsgemisch eingeengt, der Rückstand in 0,5 ml Methylenchlorid aufgenommen und mit der stöchiometrischen Menge H_2O_2 in 0,1 ml Eisessig versetzt. Das Ganze wird 5 Minuten bei 110°C erhitzt und wieder abgekühlt. Nach erfolgter Phasentrennung kann die Methylenchloridlösung ohne weitere Reinigung eingespritzt werden.

GC: Fig.61

L-Methionin-d-S-oxid-PFP/methylester

(Derivatisierung unter Konfigurationserhalt ohne Reduktion zum Thioether)

0,3 mg L-Methionin-d-S-oxid werden in 0,5 ml Methylenchlorid gelöst und mit 0,07 ml PFP-Anhydrid versetzt. Nach 10 Minuten bei Raumtemperatur wird die Probe unter einem leichten Stickstoffstrom eingeengt und erneut in 0,5 ml Methylenchlorid aufgenommen. Anschließend wird durch eine Teflonleitung solange etherische Diazomethanlösung eingeleitet, bis eine Gelbfärbung der Lösung zu beobachten ist. (Zur Darstellung der etherischen Diazomethanlösung siehe: "Darstellung von α,ω -Dibuttersäure-tetramethyldisiloxan".) Danach wird das Reaktionsgemisch unter einem leichten Stickstoffstrom eingeengt, der Rückstand in Methylenchlorid aufgenommen und ohne weitere Reinigung eingespritzt.

L-Methionin-d,l-sulfoximin-PFP-methylester

0,2 mg L-Methionin-d,l-sulfoximin werden mit 0,5 ml 2 N Salzsäure in Methanol 5 Minuten auf 110°C erhitzt. Danach wird das Lösungsmittel unter einem leichten Stickstoffstrom bei 110°C abgedampft und der Rückstand in 0,5 ml Methylenchlorid aufgenommen. Nach Zugabe von 0,05 ml PFP-Anhydrid wird nochmals 5 Minuten bei 110°C erhitzt. Nach dem Abkühlenlassen wird das Reaktionsgemisch unter einem leichten Stickstoffstrom eingeengt, der Rückstand in Methylenchlorid aufgenommen und ohne weitere Reinigung eingespritzt.
GC: Fig.63 MS: Fig.64

β-Aminoethyl-methyl-d,l-sulfoxid-PFP-amid

0,2 mg β-Aminoethyl-methyl-d,l-sulfoxid werden in 0,5 ml Methylenchlorid gelöst und mit 0,05 ml PFP-Anhydrid bei 110°C erhitzt. Nach dem Abkühlenlassen wird das Reaktionsgemisch unter einem leichten Stickstoffstrom eingeengt, der Rückstand in Methylenchlorid aufgenommen und ohne weitere Reinigung eingespritzt.
GC: Fig.65

γ-Aminopropyl-methyl-sulfid

(analog der Decarboxilierung von Aminosäuren nach Chatelus (133))

20 g Methionin werden mit 80 g Acetophenon unter Stickstoffspülung 3 Stunden lang bei 150°C erhitzt. Nach dem Abkühlenlassen wird das Amin durch Zugabe von 3 N Salzsäure als Hydrochlorid freigesetzt. Nach erfolgter Phasentrennung wird die wässrige Phase mit Ether überschichtet und das freie Amin durch Zugabe von wässrigem Natriumhydroxid in

die organische Phase gebracht. Der Ether wird am Rotationsverdampfer abgezogen und das Produkt im Vakuum destilliert (Sdp.169°C).

Ausbeute: 10,4 g

γ-Aminopropyl-methyl-d,l-sulfoxid

Methode I

0,5 mg γ-Aminopropyl-methyl-sulfid werden in 0,5 ml Methylenchlorid gelöst und mit der stöchiometrischen Menge H_2O_2 in 0,1 ml Eisessig 3 Minuten bei 110°C erhitzt. Nach dem Abkühlenlassen werden die Phasen getrennt und das Lösungsmittel unter einem leichten Stickstoffstrom abgedampft. Das resultierende γ-Aminopropyl-methyl-d,l-sulfoxid wird zum gaschromatographischen Nachweis analog β-Aminoethyl-methyl-d,l-sulfoxid zum entsprechenden PFP-Amid derivatisiert.

GC: Fig.68 MS: Fig.69

Methode II

Decarboxilierung von Methionin-d,l-S-oxid nach Chatelus (133) bzw. Kjaer (132).

4-Phenyl-1,3,2-dioxathiolan-S-oxid

0,5 mg d,l-Phenylethylenglykol werden mit 0,1 ml Thionylchlorid 30 Minuten bei 110°C erhitzt. Nach dem Abkühlenlassen wird das überschüssige Thionylchlorid unter einem leichten Stickstoffstrom abgedampft, der Rückstand in Methylenchlorid aufgenommen und ohne weitere Reinigung eingespritzt.

GC: Fig.72 MS: Fig.73

6. Synthesen zum Kapitel A.IV.

Lanthionin, Cystathionin, Allocystathionin und S-(Alkylmercapto)cysteine

Sämtliche in Kapitel A.IV.1. und 2. gaschromatographisch getrennten Aminosäuren (Racemate sowie optisch reine Enantiomere) wurden mir freundlicherweise von Prof.Dr.G.Jung, Tübingen zur Verfügung gestellt.

Derivatisierung von Lanthionin, Cystathionin, Allocystathionin und den S-(Alkylmercapto)cysteinen zu den entsprechenden PFP/Methylestern

0,3 mg Aminosäuren werden in 1 ml 2 N Salzsäure in Methanol 30 Minuten bei 110°C erhitzt. Nach dem Abkühlenlassen wird das Lösungsmittel unter einem leichten Stickstoffstrom bei 110°C abgedampft. Der Rückstand wird in 0,25 ml Methylenchlorid aufgenommen, mit 0,07 ml PFP-Anhydrid versetzt und nochmals 10 Minuten bei 110°C erhitzt. Das Reaktionsgemisch wird erneut unter einem leichten Stickstoffstrom eingeengt, der Rückstand in Methylenchlorid aufgenommen und ohne weitere Reinigung eingespritzt.

7. Gaschromatographie

Kapillaren mit 0,3 mm Innendurchmesser werden auf einer Hupe und Busch-Glasziehmaschine aus Borosilikatglas (Duran 50) gezogen. Nach der dynamischen Belegung mit 0,3 % kolloidalem SiO_2 in Aceton (165) erfolgt die Trocknung bei 250°C im Trägergasstrom (ca. 2-3 Stunden). Die Belegung mit der stationären Phase wird nach der statischen Methode (166) mit einer 0,15 %-igen Lösung der stationären Phase in Methylenchlorid oder einer 0,35 %-igen Lösung in Pentan durchgeführt. Die Kapillaren werden dann mit einem Temperaturprogramm von 1°C/Min. von 50 - 200°C konditioniert. Bereits nach einer weiteren Stunde bei 200°C sind erste Tests der Kapillare möglich. Nach etwa 10 Stunden bei 200°C ist nur noch schwaches Ausbluten der stationären Phase feststellbar.

Allgemeine gaschromatographische Bedingungen:

Trägergas: Wasserstoff

Säulenvordruck bei 20 m Säulen: 0,4 kg/cm²

Säulenvordruck bei 30 m Säulen: 0,6 kg/cm²

Splitverhältnis: 1:20 bis 1:30

Temperatur des Einspritzblockes:

bei Chirasil-Val-Kapillaren 200-275°C
bei SE-52 -Kapillaren 250-350°C
bei Durabond 30N-Kapillaren 300-400°C

Desaktivieren von Kapillaren durch Persilylierung der Glasoberfläche nach Nicholson (151)

Eine normal gereinigte Kapillare (Waschen mit einer Lösung aus 50 % konz. Salpetersäure, 10 % Fluorwasserstoffsäure und 40 % Wasser) wird zu 93 % mit 6 N Salzsäure p.A. gefüllt (dazu wird die Kapillare zuerst vollständig gefüllt; an-

schließend werden 7 % entfernt, um eine vollständige Benetzung der Kapillaroberfläche zu erzielen). Nachdem beidseitig ein Vakuum an die Kapillare gelegt worden ist, werden beide Enden zugeschmolzen und die Kapillare 12 Stunden bei 170°C erhitzt. Nach dem Abkühlenlassen wird die Salzsäure entfernt und die Kapillare mit der Hälfte des Eigenvolumens 1 %-iger Salzsäure p.A. ausgewaschen. Anschließend wird die Kapillare unter Vakuum 12 Stunden bei 200°C ausgeheizt. Nach dem Abkühlen erfolgt eine dynamische Belegung (2 Windungen) mit 1,3-Diphenyl-1,1,3,3-tetramethyldisilazan. Die Enden werden unter Vakuum zugeschmolzen und die Kapillare 12 Stunden bei 400°C erhitzt. Man läßt langsam abkühlen, kappt die Enden und wäscht die Kapillare jeweils mit dem Eigenvolumen Toluol p.A., Methanol p.A. und Ether p.A. Nach kurzem Ausheizen (ca. 30 Minuten) bei 200°C kann die Kapillare mit stationärer Phase belegt werden.

C) ZUSAMMENFASSUNG

Die Enantiomere verschiedener Substanzklassen können gaschromatographisch mit einer Chirasil-Val-Säule getrennt werden. Im ersten Teil der vorliegenden Arbeit werden die einzelnen Syntheseschritte untersucht, um eine bezüglich der Retentionsrate reproduzierbare Darstellung von Chirasil-Val zu ermöglichen. Problemstellen im Syntheseweg können aufgezeigt und durch Vergleich mit analytisch kontrollierbaren Phasen beseitigt werden. Eine Zusammenfassung des optimierten Syntheseweges wird in Kapitel A.I.7. schematisch dargestellt. Bei Phasen, die nach diesem Schema hergestellt werden, coeluieren keine Proteinaminosäureenantiomere. Dieser Aspekt ist besonders wichtig, um die Methode des Enantiomer-Labellings zur routinemäßigen Aminosäureanalyse verwenden zu können.

Mit dem Einspritzen von Tert.-Butylisocyanat in die Kapillare wird eine neue Desaktivierungsmethode beschrieben. Der Desaktivierungseffekt ist zwar zeitlich begrenzt, mögliche Verbesserungen bieten sich jedoch an. Auf diesem Gebiet müssen noch eingehendere Untersuchungen durchgeführt werden.

Die gaschromatographische Analyse von Silikonverbindungen mit Molekularmassen um 2000 stellen den entscheidenden Schritt für die Strukturaufklärung von Chirasil-Val dar. Copolymere mit Molekularmassen um 1000 und 2000 werden gaschromatographisch untersucht; die Molekulargewichtsverteilungen der entstandenen Produkte lassen sich mit den theoretischen Vorhersagen von Jacobson und Stockmayer korrelieren. Bei den für die Enantiomerentrennung wichtigen funktionalisierten Chirasil-Val-Polymeren handelt es sich um cyclische Verbindungen, deren Molekulargewichtsverteilungen sich mathematisch durch monoton fallende Funktionen beschreiben lassen. Es fällt dabei auf, daß die Einstellung einer bislang beschriebenen Molekularmasse nicht realisiert wurde,

sondern im Mittel immer bedeutend tiefer lag. Bei der Verteilung der funktionellen Gruppen in den Siloxanmolekülen wird keine Blockbildung beobachtet. Das für die Trennung wichtige Verhältnis x:y gilt zwar für das gesamte System, ist aber wegen der Existenz von MD_xM und D_x im Mittel für alle Moleküle mit funktionellen Gruppen erheblich kleiner.

Die eigens für die Strukturaufklärung sowie einen analytisch kontrollierbaren Syntheseweg dargestellten α,ω-bifunktionellen Phasen erweisen sich auch für die Enantiomerentrennung als geeignet. Die Kupplung von Polydimethylsiloxy-$\overline{7,0}$- α,ω-dibuttersäure mit L-Val-t-butylamid liefert eine stationäre Phase, deren thermische Stabilität mit Chirasil-Val vergleichbar ist und deren Trennfaktoren sogar noch größer sind als bei Chirasil-Val.

Mit der Enantiomerentrennung von Molekülen mit asymmetrisch substituiertem Schwefelatom wird ein neues Anwendungsgebiet für Chirasil-Val-Kapillaren erschlossen. Neben der Enantiomerentrennung optisch aktiver Schwefelverbindungen kann die Chiralität des Schwefels genutzt werden, um bisher nicht trennbare chirale Verbindungen zu trennen. So werden die Enantiomere des 2-Methylmethionins an Chirasil-Val nicht getrennt, wohl aber sämtliche Isomere des S-Oxids. Chirale Glykole werden durch Überführung in die entsprechenden 1,3,2-Dioxathiolan-S-oxide als Diastereomere getrennt. Mit diesem Weg können nun auch Enantiomerenanteile von Glykolen bestimmt werden, die sich bislang der Trennung entzogen haben.

Das letzte Kapitel dieser Arbeit ist eine Ergänzung zur Enantiomerentrennung von Aminosäuren an Chirasil-Val. Es wird gezeigt, daß die Enantiomere von Lanthionin, Cystathionin und Allocystathionin als PFP/Methylester sehr gut getrennt werden können.

Dank

Der Schluß soll allen gewidmet sein, die mir bei der Arbeit geholfen haben und denen ich auf diesem Wege danken möchte.
Besonders hervorheben möchte ich Herrn G.J.Nicholson, dem ich nicht nur für die Aufnahme sämtlicher Massenspektren danke, sondern auch für seine Einführung in die Arbeitsweise der Gaschromatographie, in die Techniken der Desaktivierung und Belegung von Kapillaren und vieles mehr. Die Diskussionen mit ihm und Herrn Dipl.Chem. Jürgen Gerhardt waren des öfteren Ursprung für aufgezeigte Ergebnisse. Erwähnt sei auch die gute Atmosphäre und das ausgezeichnete Arbeitsklima in der "Chirasil-Mafia"; beides hat sehr zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Herrn Dr. Hartmut Frank danke ich für viele wertvolle Anregungen und für das Interesse, das er der Arbeit entgegengebracht hat.

Herrn Prof. Dr. G. Jung danke ich herzlich für die Bereitstellung aller in Kapitel A.IV. chromatographierten Aminosäuren.

Herrn Dr. Klaus Albert möchte ich für die Aufnahme der NMR-Spektren sowie für die Mithilfe bei der Interpretation danken.

LITERATURVERZEICHNIS

1) L.Pauling: "Grundlagen der Chemie", Verlag Chemie (1969)

2) IUPAC-IUB Combined Commission on Biochemical Nomenclature Biochem., 5, 2485 (1966)

3) Alworth,W.L.,"Stereochemistry and its Application to Biochemistry", Wiley, New York, (1972)

4) Daniels,T.C., and Jorgensen,E.C., in Wilson,C.O., Gisvold,O., and Doerge,R.F., (Eds.), "Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry", Lippincott, Philadelphia, pp.4-64, (1966)

5) Albert,A., "Selective Toxicity", Methuen, London (1968)

6) E.Bayer and H.Frank, ACS Symposium Series, No.121, 341 (1980)

7) A.Korolkovas, "Grundlagen der Molekularen Pharmakologie", Thieme Verlag, Stuttgart, S.99-103 (1974)

8) J.E.Wilson, V.du Vigneaud, J. Biol. Chem., 184, 63 (1950)

9) H,Ockenfels, F.Köhler, Experientia, 26, 1236 (1970)

10) G.Blaschke, H.P.Kraft, K.Fickentscher, F.Köhler, Arzneim. Forsch., 29, 1640 (1979)

11) J.J.Corrigan, Science, 164, 142 (1969)

12) J.M.Manning, J. Biol. Chem., 246, 2926 (1971)

13) G.E.Pollock, C.-N.Cheng and S.E.Cronin, Anal. Chem., 49 (1), 2 (1977)

14) P.E.Hare, and P.H.Abelson, Carnegie Inst. Wash. Yearbook 1966, 526

15) K.A.Kvenvolden, Science, 169, 1079 (1970)

16) J.L.Bada, and R.Protsch, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 70, 1331 (1973)

17) K.M.Williams, and G.G.Smith, Origins of Life, 8, 91 (1977)

18) P.Masters Helfman, and J.L.Bada, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 72, 2891 (1975)

19) J.L.Bada, Earth Planet. Sci. Lett., 55, 292 (1981)

20) E.Gil-Av, R.Charles-Sigler, G.Fischer, D.Nurok, J. Gas Chromatogr., 4, 51 (1966)

21) W.A.König, W.Rahn, J.Eyem, J. Chromatogr., 133, 141 (1977)

22) E.Gil-Av, B.Feibush, R.Charles-Sigler in A.B.Littlewood (Editor) Gas Chromatography 1966, Inst. of Petroleum London,S.227 (1967)

23) E.Gil-Av, R.Charles and G.Fischer, J. Chromatogr., 17, 408 (1965)

24) G.E.Pollock, V.I.Oyama, and R.D.Johnson, J. Gas Chromatogr., 3, 174 (1965)

25) B.Halpern, and J.W.Westley, Chem. Commun., 246 (1965)

26) E.Gil-Av, B.Feibush, and R.Charles-Sigler, Tetrahedr. Lett., 1009 (1966)

27) H.Frank, G.J.Nicholson, E.Bayer, J. Chromatogr. Sci., 15, 174 (1977)

28) H.Frank, G.J.Nicholson, E.Bayer, J. Chromatogr., 167, 187 (1978)

29) H.Frank, G.J.Nicholson, E.Bayer, J. Chromatogr., 146, 197 (1978)

30) W.Parr, C.Yang, J.Pleterski, E.Bayer, J. Chromatogr., 50, 510 (1970)

31) U.Beitler, B.Feibush, J. Chromatogr., 123, 149 (1976)

32) H.Frank, G.J.Nicholson, E.Bayer, Angew. Chem., 90, 396 (1978)

33) D.Thumm, Dissertation Universität Tübingen 1980

34) J.Gerhardt, Diplomarbeit Universität Tübingen 1981

35) H.Frank, G.J.Nicholson, E.Bayer, Angew. Chem., Intern. Ed., 17, 363 (1978)

36) W.A.König, I.Benecke, S.Sievers, J. Chromatogr., 217, 71 (1981)

37) W.A.König, W.Francke, I.Benecke, J. Chromatogr., 239, 227 (1982)

38) B.Koppenhöfer, Dissertation Universität Tübingen 1980

39) E.Bayer, E.Küsters, G.J.Nicholson, H.Frank, Manuskript in Vorbereitung

40) S.V.Vitt, M.B.Saporovskaya, G.V.Awakumov, V.M.Beliko, Russ. Chem. Rev., 45 (3), 267 (1976)

41) E.Küsters, Diplomarbeit Universität Tübingen 1981

42) L.H.Sommer, E.W.Pietrusza, F.C.Whitmore, J. Am. Chem. Soc., 69, 188 (1947)

43) J.L.Speier, Adv. organometal. Chem., 17, 407 (1979)

44) E.Colvin, "Silicon in Organic Synthesis", Butterworths (1981)

45) T.K.Gar, A.A.Buyakov, A.V.Kisin, V.F.Mironov, J. gen. Chem. U.S.S.R., 41, 1596 (1971)

46) J.L.Speier, J.A.Webster, G.H.Barnes, J. Am. Chem. Soc., 79, 974 (1957)

47) B.A.Bluestein, U.S. 2,971,970 , 14.Feb., 1961

48) J.L.Speier, J.C.Saam, J. Am. Chem. Soc., 80, 4104 (1958)

49) J.L.Speier, J.C.Saam, J. Am. Chem. Soc., 83, 1351 (1961)

50) J.W.Ryan, J.L.Speier, J. Am. Chem. Soc., 86, 895 (1964)

51) A.J.Chalk, J.F.Harrod, J. Am. Chem. Soc., 87, 16 (1965)

52) L.H.Sommer, J.E.Lyons, H.Fujimoto, J. Am. Chem. Soc., 91, 7051 (1969)

53) W.Noll, "Chemie und Technologie der Silicone", Verlag Chemie, Weinheim/Bergstraße, S.142 (1968)

54) M.Prober, J. Am. Chem. Soc., 77, 3224 (1955)

55) S.Nozakura, S.Konotsune, Bull. chem. Soc. Japan, 29, 322 (1956)

56) W.Patnode, D.F.Wilcock, J. Am. Chem. Soc., 68, 358 (1946)

57) K.Schurrbusch, DBP 1034631 (1959)

58) S.W.Kantor, W.T.Grubb, R.C.Osthoff, J. Am. Chem. Soc., 76, 5190 (1954)

59) G.Odian, "Principles of Polymerization", 2nd Edition, Wiley, N.Y., 549 (1981)

60) W.T.Grubb, R.C.Osthoff, J. Am. Chem. Soc., 77, 1405 (1955)

61) M.G.Voronkov, V.P.Mileshkevich, Y.A.Yuzhelevskii, "The Siloxane Bond", Plenum Press, N.Y., 2 (1978)

62) H.Jacobson, W.H.Stockmayer, J. chem. Phys., 18, (12), 1600 (1950)

63) J.C.Sheehan, M.Goodman, G.P.Hess, J. Am. Chem. Soc., 77, 1067 (1955)

64) J.C.Sheehan, M.Goodman, G.P.Hess, J. Am. Chem. Soc., 78, 1367 (1956)

65) F.Weygand, P.Huber, K.Weiss, Z. Naturforsch., 22b, 1084 (1967)

66) H.Hagenmaier, H.Frank, Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem., 353, 1973 (1972)

67) H.A.Staab, G.Maleck, Chem. Ber., 99, 2955 (1966)

68) K.Grob, G.Grob, J. Chromatogr., 213, 211 (1981)

69) G.J.Nicholson,persönliche Mitteilung

70) K.Grob, G.Grob, Journal of HRC & CC, 3, 197 (1980)

71) R.Liardon, S.Ledermann, Journal of HRC & CC, 3, 475 (1980)

72) R.Paul, G.W.Anderson, J. Am. Chem. Soc., 82, 4596 (1966)

73) Houben-Weyl-Müller, "Methoden der organischen Chemie", Thieme Verlag Stuttgart, 1974, Bd.XV/2, S.106

74) G.Fritz, Z. Naturforsch., 10b, 423 (1955)

75) P.J.Flory, J.A.Semlyen, J. Am. Chem. Soc., 88, 3209 (1966)

76) P.V.Wright, J.A.Semlyen, Polymer, 11 (9), 462 (1970)

77) P.V.Wright, J.A.Semlyen, Polymer, 10, 543 (1969)

78) J.F.Brown, G.M.Slusarczuk, J. Am. Chem. Soc., 87, 931 (1965)

79) M.S.Beevers, J.A.Semlyen, Polymer, 12 (6), 373 (1971)

80) T.C.Kendrick, J. Polym. Sci., A-2, 7, 297 (1969)

81) H.A.Hartung, S.M.Camiolo, Abstracts of Papers, 141 st National Meeting of the American Chemical Society, Washington, D.C., March 21-29, (1962)

82) J.B.Carmichael, J.Kinsinger, Can. J. Chem., 42, 1996 (1964)

83) J.B.Carmichael, R.Winger, J. Polymer Sci., A3, 971 (1965)

84) J.B.Carmichael, D.J.Gordon, C.E.Ferguson, J. Gas Chromatogr., 347 (1966)

85) V.A.Kochetov, I.Soucek, B.A.Markov, E.A.Kirichenko, K.A.Andrianov, L.A.Khananashvili, Z. anal. Chim., 31, 2252 (1976); Ref.: Fr. 289, 149 (1978)

86) B.N.Luskina, N.N.Troitskaya, V.V.Mosina, Z. anal. Chim., 31, 779 (1976); C.A. 85, 116310 (1976)

87) Houben-Weyl-Müller, "Methoden der organischen Chemie", Thieme Verlag, Stuttgart, 1980 , Bd.XIII/5, S.416

88) D.Hoppe, U.Schöllkopf, Angew. Chem., 84, 435 (1972)

89) W.J.Pope, S.J.Peachey, J. Chem. Soc., 77, 1072 (1900)

90) S.Smiles, J. Chem. Soc., 77, 1174 (1900)

91) P.W.B.Harrison, J.Kenyon, H.Phillips, J. Chem. Soc., 2079 (1926)

92) F.Challenger, "Aspects of the Organic Chemistry of Sulphur", Butterworths: London (1959)

93) A.Kjaer, Pure Appl. Chem., 49, 137 (1977)

94) H.J.Backer, K.J.Keuning, Rec. Trav. Chim. Pays-Bas, 53, 798 (1934)

95) G.Farina, F.Montanari, A.Negrini, Gazz. Chim. Ital., 89, 1548 (1959)

96) W.H.Pirkle, D.W.House, J. Org. Chem., 44, 1957 (1979)

97) W.H.Pirkle, J.M.Finn, J.L.Schreiner, B.C.Hamper, J. Am. Chem. Soc., 103, 3964 (1981)

98) W.H.Pirkle, D.W.House, J.M.Finn, J. Chromatogr., 192, 143 (1980)

99) S.Allenmark, B.Bomgren, J. Chromatogr., 252, 297 (1982)

100) A.J.Virtanen, Angew. Chem., 74, 374 (1967)

101) C.E.Dent, Science, 105, 335 (1947)

102) C.E.Dent, Biochem. J., 43, 169 (1948)

103) S.M.Henry, R.J.Block, Contrib. Boyce Thompson Inst., 21, 129 (1961)

104) E.A.Barnsley, A.E.R.Thompson, L.Young, Biochem. J., 90, 588 (1964)

105) R.L.Synge, J.C.Wood, Biochem. J., 64, 252 (1956)

106) E.A.Barnsley, Tetrahedron, 24, 3747 (1968)

107) F.Lucas, L.Levenbook, Biochem. J., 100, 473 (1966)

108) T.F.Lavin, J. biol. Chem., 169, 477 (1947)

109) R.Hine, D.Rogers, Chem. and Ind., 1428 (1956)

110) W.Gaffield, F.F.Wong, J.F.Carson, J. Org. Chem., 30, 951 (1965)

111) B.Iselin, Helv. Chim. Acta, 44, 61 (1961)

112) G.Toennies, J.J.Kolb, J. biol. Chem., 128, 399 (1939)

113) F.Micheel, H.Schmitz, Ber. deutsch. chem. Ges., 72, 518 (1939)

114) E.Gil-Av, B.Feibush, R.Charles-Sigler, in A.B.Littlewood (Ed.) Gas Chromatography 1966, London 1967 p.227

115) G.Natile, E.Bordignon, L.Cattalini, Inorg. Chem., 15, 246 (1976)

116) P.G.Richman, M.Orlowski, A.Meister, J. biol. Chem., 248, No.19, 6684 (1973)

117) H.R.Bentley, E.E.McDermott, J.K.Whitehead, Nature, 165, 735 (1950)

118) E.L.Peters, D.B.Tower, J. Neurochem., 5, 80 (1959)

119) M.Proler, P.Kellaway, Epilepsia, 3, 117 (1962)

120) J.Pace, E.E.McDermott, Nature, 169, 415 (1952)

121) W.B.Rowe, R.A.Ronzio, A.Meister, Biochem., 8, 2674 (1969)

122) R.A.Ronzio, A.Meister, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 59, 164 (1968)

123) R.A.Ronzio, W.B.Rowe, A.Meister, Biochemistry, 8, 1066 (1969)

124) J.M.Manning, S.Moore, W.B.Rowe, A.Meister, Biochemistry, 8, 2681 (1969)

125) H.R.Bentley, E.E.McDermott, J.R.Whitehead, Prov. Roy. Soc. (London), B 138, 265 (1951)

126) B.W.Christensen, A.Kjaer, Chem. Commun., 225, (1965)

127) A.I.Virtanen, Angew. Chem., 74, 374 (1962)

128) Vgl. A.Stoll, E.Seebeck, Advances in Enzymol., 2, 377 (1951)

129) P.Karrer, E.Scheitlin, H.Siegrist, Helv. Chim. Acta, 33, 1237 (1950)

130) H.C.J.Ottenheijm, R.M.J.Liskamp, S.P.J.M.van Nispen, H.A.Boots, M.W.Tijhuis, J. Org. Chem., 46, 3273 (1981)

131) F.I.K.Ogura, G.Tsuchihashi, Tetrahedron Lett., 3151 (1971)

132) A.Kjaer, O.Malver, Chemica Scripta, 20, 42 (1982)

133) G.Chatelus, Compt. rend., 248, 690 (1959)

134) A.Stoll, E.Seebeck, Helv. Chim. Acta, 32, 197 (1949)

135) J.Cavallito, J.Bailey, J.Buck, J. Am. Chem. Soc., 67, 1032 (1945)

136) J.Cavallito, J.Bailey, J. Am. Chem. Soc., 66, 1950 (1944)

137) Eine verbesserte Methode zur Isolierung von Allicin ist von Raghunandana Rao beschrieben worden.
a) R.Raghunandana Rao, J. Sci. Ind. Research 5, no2 (1946)
b) Chem. Abstr., 41, 2461 (1947)

138) F.Lehmann, Arch. exper. Path. Pharmacol., 147, 245 (1930)

139) G.Fleury, Bull. Soc. de Pharm. de Bordeaux, 70, 190 (1932)

140) P.T.Herzig, M.Ehrenstein, J. Org. Chem., 17, 724 (1952)

141) P.B.D.De la Mare, W.Klyne, D.J.Millen, J.G.Pritchard, D.Watson, J. Chem. Soc., 1813 (1956)

142) J.M.Coxon, E.Dansted, M.P.Hartshorn, K.E.Richards, Tetrahedron, 24, 1193 (1968)

143) J.M.Coxon, M.P.Hartshorn, A.J.Lewis, Aust. J. Chem., 24, 1009 (1971)

144) A.T.Rowland, H.W.Altland, W.S.Creasy, T.M.Dyott, Tetrahedron Lett., 4409 (1970)

145) A.T.Rowland, T.B.Adams, H.W.Altland, W.S.Creasy, S.A.Dressner, T.M.Dyott, Tetrahedron Lett., 4405 (1970)

146) G.Jung, M.Ottnand, M.Rimpler, Eur. J. Biochem., 35, 436 (1973)

147) V.du Vigneaud, G.B.Brown, J. Biol. Chem., 138, 151 (1941)

148) E.Gross, J.L.Morell, J. Am. Chem. Soc., 93, 4634 (1971)

149) P.C.Jocelyn, "Biochemistry of the SH Group", pp.169, Academic Press, London, New York

150) J.P.Greenstein, M.Winitz,"Chemistry of the Amino Acids", vol.1. pp.324, John Wiley & Sons Inc.

151) G.J.Nicholson, persönliche Mitteilung

152) U.Weber, P.Hartter, Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem., 351, 1384 (1970)

153) D.J.McCaldin, Chem. Ber., 60, 39 (1960)

154) R.A.Fahmy, A.Niederwieger, G.Pataki, M.Brenner, Helv. Chim. Acta, 44, 2022 (1961)

155) F.Reindel, W.Hoppe, Chem. Ber., 87, 1103 (1954)

156) G.Pataki, J.Chromatogr., 12, 541 (1963)

157) H.Frank, D.Bimboes, G.J.Nicholson, Chromatographia, 12, 168 (1979)

158) L.Carpino, C.A.Giza, B.A.Carpino, J. Am. Chem. Soc., 81, 955 (1959)

159) E.Schnabel, Ann. Chem., 702, 188 (1967)

160) R.O.Sauer, J. Am. Chem. Soc., 66, 1707 (1944)

161) E.Rietz, Org. Synth. Coll. Vol.III, 851 (1955)

162) E.J.Corey, J. Am. Chem. Soc., 75, 2251 (1953)

163) N.L.Drake, J.A.Garman, J. Am. Chem. Soc., 71, 2425 (1949)

164) Houben-Weyl-Müller, "Methoden der organischen Chemie", Thieme Verlag Stuttgart, 1957, Bd.XI/1 S.82

165) E.Schulte, Chromatographia, 9, 315 (1976)

166) J.Bouche, M.Verzele, J.Gas Chromatogr., 6, 501 (1968)

167) M.Mikolajczyk, J.Drabowicz, Top. Stereochem., 13, 333 (1982)

Meine akademischen Lehrer waren

in Kaiserslautern

die Herren Professoren D.Döpp, J.Fuhrmann, H.-G.Kuball,
F.Preuss, M.Regitz, O.J.Scherer,

in Tübingen

Frau Prof.S.Kemmler-Sack
und die Herren Professoren und Dozenten
E.Bayer, G.Häfelinger, M.Hanack, G.Jung, V.Hoffmann,
U.Kunze, E.Lindner, I.P.Lorenz, H.Oberhammer, D.Oelkrug,
H.Pauschmann, G.Pausewang, W.Rundel, F.F.Seelig, J.Strähle,
W.Zeil.

Lebenslauf

Ernst Küsters

14. 11. 1955	geboren in Kempen als Sohn des Jakob Küsters und seiner Frau Angela, geb. Kerkmann
1962 - 1966	Volksschule in St.Tönis, Brühl, Teschenmoschel und Rockenhausen
1966 - 1975	Staatliches Wilhelm-Erb-Gymnasium Winnweiler
Mai 1975	Allgemeine Hochschulreife
Oktober 1975	Studium der Chemie an der Universität Kaiserslautern
September 1977	Diplom-Vorprüfung
Oktober 1977	Wechsel des Hochschulortes, Studium der Chemie an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen
Dezember 1980	Mündliche Diplomprüfung
Februar - August 1981	Diplomarbeit bei Herrn Prof.Dr.Ernst Bayer: "Darstellung des chiralen Polysiloxans Chirasil-Val und Anwendung in der gaschromatographischen Enantiomerentrennung"
September 1981	Diplom
Oktober 1981 - Juni 1983	Experimenteller Teil der Dissertation: "Synthese und Struktur chiraler Polysiloxanphasen zur gaschromatographischen Trennung optisch aktiver Schwefelverbindungen" am Institut für Organische Chemie der Universität Tübingen unter Leitung von Herrn Prof.Dr.Ernst Bayer
Seit Oktober 1981	Assistententätigkeit im organischen Praktikum für Biochemiker
Seit Juli 1982	glücklich verheiratet mit Marianne, geb. Brack

Druck und Gesamtherstellung:
H. Hummel, Bismarckstr. 116/6
D-7410 Reutlingen, Tel. 0 71 21/4 53 77